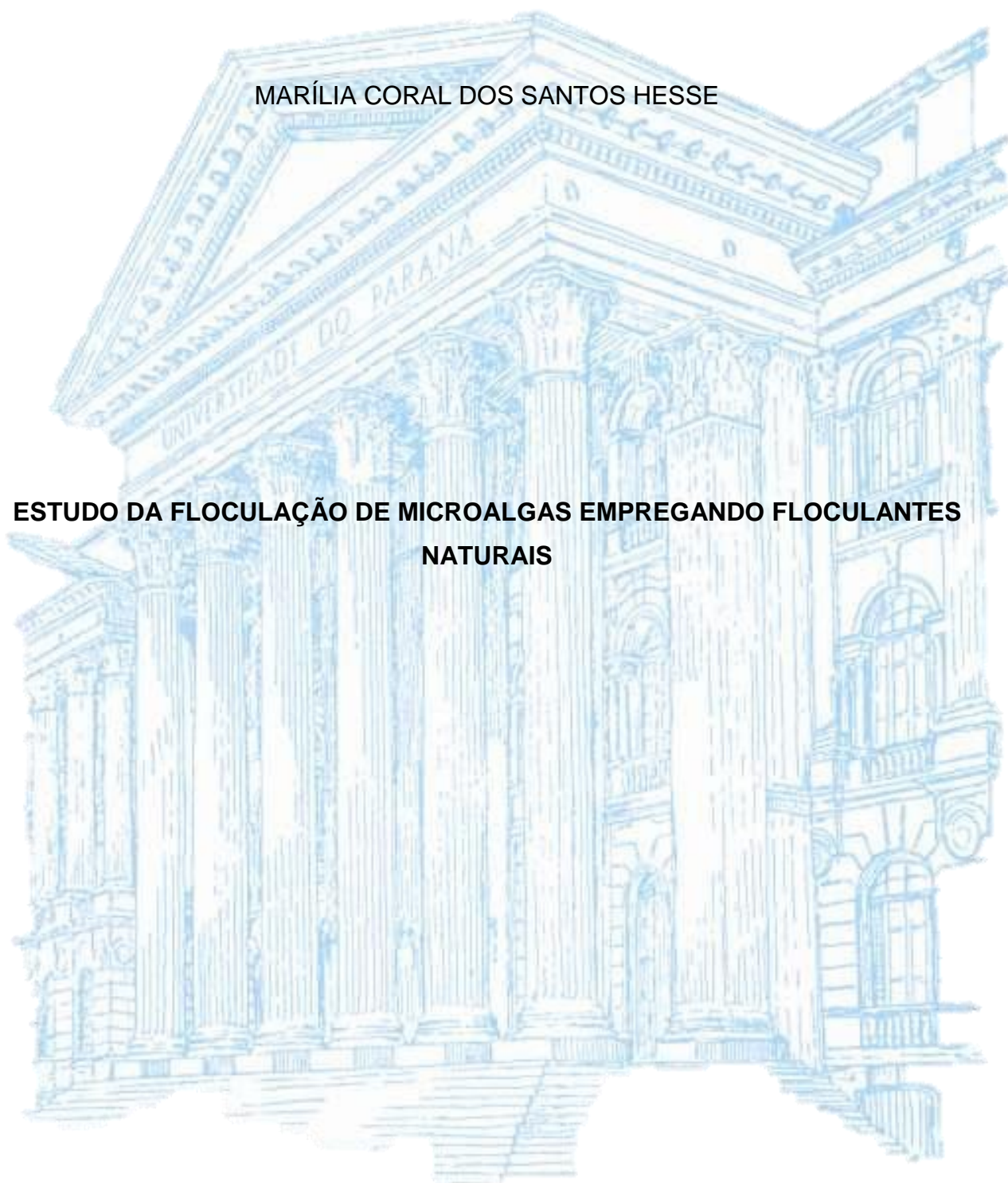


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARÍLIA CORAL DOS SANTOS HESSE

**ESTUDO DA FLOCULAÇÃO DE MICROALGAS EMPREGANDO FLOCULANTES
NATURAIS**



CURITIBA

2016

MARÍLIA CORAL DOS SANTOS HESSE

**ESTUDO DA FLOCULAÇÃO DE MICROALGAS EMPREGANDO FLOCULANTES
NATURAIS**

Trabalho apresentado como requisito para obtenção do grau de mestre. Programa de Pós-graduação em Engenharia Química – PPGEQ. Setor de Tecnologia. Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Bruno Vieira.

Co-orientador: Prof. Dr. André Bellin Mariano.

CURITIBA


2016



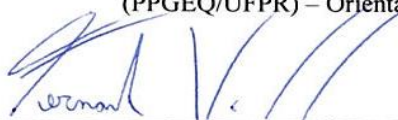
ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Aos dezoito dias do mês de março de 2016, no Auditório Inferior do Prédio da Engenharia Química no Centro Politécnico – UFPR foi instalada pelo professor Dr. Rafael Bruno Vieira, do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, a Banca Examinadora para a octogésima oitava defesa de dissertação de mestrado na área de concentração: Desenvolvimento de Processos Químicos. Estiveram presentes no ato, professores, alunos e visitantes. A Banca Examinadora, atendendo à determinação do colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, foi constituída pelos professores doutores: Rafael Bruno Vieira (PPGEQ/UFPR), Fernando Augusto Pedersen Voll (PPGEQ/UFPR), André Bellin Mariano (PIPE/UFPR), e Patrícia Angélica Vieira (FEQ/UFU). Às 14h00, a banca iniciou os trabalhos, convidando a candidata **Marília Coral dos Santos Hesse** a fazer a apresentação da dissertação de mestrado intitulada “*Floculação de microalgas usando floculantes naturais*”. Encerrada a apresentação, iniciou-se a fase de arguição pelos membros participantes. Tendo em vista a dissertação e a arguição, a banca decidiu pela APROVAÇÃO da candidata, (de acordo com a determinação dos artigos 68º e 69º da Resolução 65/09 – CEPE/UFPR de 30.10.2009).

Curitiba, 18 de março de 2016.



Prof. Dr. Rafael Bruno Vieira
(PPGEQ/UFPR) – Orientador



Prof. Dr. Fernando Augusto Pedersen Voll
(PPGEQ/UFPR) – Membro Interno



Prof. Dr. André Bellin Mariano
(PIPE/UFPR) – Coorientador



Prof. Dra. Patrícia Angélica Vieira
(FEQ/UFU) – Membro Externo

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço aos meus pais, Zula e Mariano, pelo apoio nesta jornada, incentivando a seguir em frente nas minhas escolhas e a buscar conhecimento, mostrando que sempre temos muito a aprender. À minha irmã e melhor amiga, Marina, pelas, mesmo poucas, mas sinceras, palavras de apoio.

Agradeço também ao André pelo companheirismo e paciência ao entender que algumas vezes era preciso abrir mão de estarmos juntos para que esta jornada tão importante em minha vida pudesse ser concluída.

Ao meu orientador, Rafael Bruno Vieira, pela paciência, dedicação, incentivo a cada novo desafio e pelos ensinamentos passados durante todo este percurso.

Ao meu co-orientador, André Bellin Mariano, pelas contribuições nos trabalhos experimentais e na construção desse documento.

A toda equipe do NPDEAS, especialmente à Beatriz, pelos ensinamentos e trocas de experiências que trouxeram a esta etapa uma bagagem enorme de conhecimento não só para minha vida profissional, mas também pessoal.

Por fim, meu agradecimento ao CNPq pelo auxílio financeiro que possibilitou a realização deste trabalho.

A todos, muito obrigada.

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais volta ao seu tamanho original.”

Albert Einstein

RESUMO

Este trabalho avaliou o uso de flocculantes naturais (tanfloc, quitosana e amidos catiônicos de mandioca) e mistura de flocculantes inorgânicos (sulfato de ferro III, cloreto de ferro III, sulfato de alumínio e sulfato de ferro II) com tanfloc para recuperação de biomassa proveniente de fotobiorreatores tubulares de 10 m³ utilizando efluente de dejetos suíno como meio de cultura em condições ambientais de temperatura e luminosidade. Em todos os experimentos avaliou-se a eficiência de floculação através da densidade ótica do clarificado. Inicialmente foram feitos testes preliminares variando a concentração de quitosana em solução aquosa de ácido acético e na suspensão a ser floculada. Em seguida, foi realizado um planejamento fatorial para avaliar as variáveis significativas na resposta eficiência de floculação. As variáveis analisadas no planejamento fatorial foram: pH, velocidade de mistura (VM), tempo de mistura (TM), concentração de tanfloc (CT) e concentração de quitosana (CQ). Posteriormente, realizou-se um planejamento composto central para avaliar e otimizar os efeitos do pH, concentração de tanfloc (CT) e concentração de biomassa (CB) sobre a eficiência de floculação através da metodologia de superfície de resposta. Com os planejamentos fatorial e composto central pôde-se descartar as variáveis não significativas (VM e TM) e fixar valores otimizados para todas as variáveis envolvidas, respectivamente. Nos testes relacionados ao reuso do clarificado focou-se em analisar o crescimento do cultivo através da concentração de biomassa e concentração de células, uma vez que já se tinha conhecimento da eficiência dos flocculantes utilizados (tanfloc e quitosana). Tais testes foram realizados em fotobiorreatores de 12 litros em condições ambientais de temperatura e luminosidade. Os resultados obtidos mostraram, que o meio recirculado após a floculação com tanfloc e quitosana, teve um efeito positivo sobre o crescimento da biomassa e produção lipídica e, portanto, foi possível constatar que o uso de meio reciclado é possível, pois a utilização de flocculantes naturais não afetou a recuperação de lipídios das células. Finalmente, buscou-se comparar os custos do processamento da biomassa utilizando tanfloc e quitosana, e perante os resultados obtidos pôde-se perceber a capacidade do tanfloc em competir com a quitosana no que se diz respeito à floculação de microalgas. Os flocculantes testados apresentaram custos de processamento bem próximos, fazendo com que a escolha por um deles seja baseada em outros fatores, tais como: a necessidade de reduzir o pH do meio antes da floculação, disponibilidade do flocculante, etc.

Palavras-chave: Amidos catiônicos de mandioca, flocculantes inorgânicos, quitosana, reuso de clarificado, *Scenedesmus* sp., tanfloc.

ABSTRACT

This study evaluated the use of natural flocculants (tanfloc, chitosan and manioc cationic starches) and mixture of inorganic flocculants (iron III sulphate, iron III chloride, aluminum sulphate and iron II sulphate) with tanfloc for recovering biomass from 10 m³ tubular photobioreactors using swine effluent of waste water as culture medium at ambient conditions of temperature and light. In all experiments evaluated the flocculation efficiency by optical density of clarified. Initially, preliminary tests were made varying the concentration of chitosan in aqueous solution of acetic acid and the suspension to be flocculated. Next, it was performed a factorial design to evaluate the significant variables in the flocculation efficiency response. The variables analyzed in the factorial design were: pH, mixture speed (VM), mixing time (TM), concentration tanfloc (CT) and concentration of chitosan (CQ). Later, there was performed a central composite design to evaluate and optimize the effects of pH, concentration of tanfloc (CT) and biomass concentration (CB) on the flocculation efficiency by response surface methodology. With the factorial and the central composite design can put away the significant variables (VM e TM) and set optimized values for all the involved variables. In tests related to the water reuse focused on analyzing the growth of cultivation through biomass concentration and cell concentration, because it already had knowledge of flocculation efficiency of the used flocculants (tanfloc and chitosan). These tests were performed in 12 liters photobioreactors at ambient temperature and light. The results showed that the recycled medium after flocculation with tanfloc and chitosan had a positive effect on the growth of biomass and lipid production, and therefore it was found that the use of recycled medium is possible, since the use of natural flocculants didn't affect the recovery of lipids cells. Finally, it was compared the biomass processing costs using tanfloc and chitosan and in front of the results could be seen the tanfloc's ability to compete with chitosan as it relates to the flocculation of microalgae. The flocculants tested were very close processing costs and the choice for them to be based on other factors, such as: the need to reduce the pH of the medium before flocculation, flocculant availability, etc.

Keywords: Chitosan, inorganic flocculants, manioc cationic starches, *Scenedesmus* sp., tanfloc, water reuse.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - MICROALGAS DO GÊNERO <i>SCENEDESMUS</i>	18
FIGURA 2 - MICROALGAS <i>SCENEDESMUS</i> SP. PROVENIENTES DOS CULTIVOS FAZENDO O REUSO DO CLARIFICADO.....	19
FIGURA 3 – ACÁCIA NEGRA, MATÉRIA-PRIMA PARA PRODUÇÃO DE TANFLOC.....	25
FIGURA 4 – TANFLOC PRONTO PARA USO PRODUZIDO PELA TANAC.	25
FIGURA 5 – EQUIPAMENTO DE <i>JAR TEST</i> UTILIZADO NOS EXPERIMENTOS.	31
FIGURA 6 – FOTOBIORREATORES DO TIPO AIR LIFT UTILIZADO NO CULTIVO DA ESPÉCIE <i>SCENEDESMUS</i> SP.....	32
FIGURA 7 – TANQUE DECANTADOR UTILIZADO EM EXPERIMENTOS EM ESCALAS MAIORES.	37
FIGURA 8 – CENTRÍFUGA UTILIZADA NOS EXPERIMENTOS: MODELO 512.	38
FIGURA 9 - EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO VS CONCENTRAÇÃO DE QUITOSANA NO MEIO PARA DIVERSAS CONCENTRAÇÕES DE QUITOSANA EM ÁCIDO ACÉTICO EM 540 (A), 670 (B) E 750 NM (C).	42
FIGURA 10 - RELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE QUITOSANA E O PH MEDIDO NO MEIO PARA SOLUÇÕES COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES.....	43
FIGURA 11 - EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO EM FUNÇÃO DO PH PARA TRÊS CONDIÇÕES: SEM QUITOSANA E NAS CONCENTRAÇÕES DE 15 MG/L E 25 MG/L EM 540 (A), 670 (B) E 750 NM (C).	45
FIGURA 12 - EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO E PH DO MEIO APÓS ADIÇÃO DE FLOCULANTE EM RELAÇÃO À CONCENTRAÇÃO DE QUITOSANA.....	47
FIGURA 13 - GRÁFICO DE PARETO PARA A EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO EM 540 NM CONSIDERANDO A INFLUÊNCIA DO PH, TEMPO E VELOCIDADE DE AGITAÇÃO, CONCENTRAÇÃO DE QUITOSANA E TANFLOC E A INTERAÇÃO DOS ÚLTIMOS.	49
FIGURA 14 - GRÁFICO DE PARETO PARA A EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO EM 670 NM CONSIDERANDO A INFLUÊNCIA DO PH, TEMPO E VELOCIDADE DE AGITAÇÃO, CONCENTRAÇÃO DE QUITOSANA E TANFLOC E A INTERAÇÃO DOS ÚLTIMOS.	49
FIGURA 15 - GRÁFICO DE PARETO PARA A EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO EM 750 NM CONSIDERANDO A INFLUÊNCIA DO PH, TEMPO E VELOCIDADE DE AGITAÇÃO, CONCENTRAÇÃO DE QUITOSANA E TANFLOC E A INTERAÇÃO DOS ÚLTIMOS.	50
FIGURA 16 – SUPERFÍCIE DE RESPOSTA E CURVA DE CONTOURNO PARA A EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE TANFLOC E DA CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA EM PH 7.	54

FIGURA 17 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA E CURVA DE CONTORNO PARA A EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA E DO PH EM COM CONCENTRAÇÃO DE TANFLOC FIXA EM 125 MG/L.....	54
FIGURA 18 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA E CURVA DE CONTORNO PARA A EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE TANFLOC E DO PH EM COM CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA FIXA EM 0,528 G/L.....	55
FIGURA 19 - FILTRAÇÃO DA BIOMASSA OBTIDA ATRAVÉS DA FLOCULAÇÃO DA QUITOSANA (A) E DO TANFLOC (B).....	56
FIGURA 20 - CLARIFICADO OBTIDO ATRAVÉS DA FLOCULAÇÃO DO TANFLOC (A) E DA QUITOSANA (B).....	57
FIGURA 21 - CRESCIMENTO DA <i>SCENEDESMUS SP.</i> EM MEIO RECICLADO PELA FLOCULAÇÃO USANDO TANFLOC.....	57
FIGURA 22 - CRESCIMENTO DA <i>SCENEDESMUS SP.</i> EM MEIO RECICLADO PELA FLOCULAÇÃO USANDO QUITOSANA.	58
FIGURA 23 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA RESTABILIZAÇÃO DA SUSPENSÃO DEVIDO AO EXCESSO DE FLOCULANTE.....	59
FIGURA 24 - ANÁLISES COT E TN DO CLARIFICADO DE CADA REUSO PARA O TANFLOC E QUITOSANA.....	60
FIGURA 25 - TEOR DE LIPÍDIOS NA BIOMASSA SECA PARA CADA CULTIVO.....	61
FIGURA 26 – EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO AO COMBINAR-SE FLOCULANTES INORGÂNICOS E TANFLOC.	65

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - PRODUTOS DE ALTO VALOR AGREGADO DAS MICROALGAS E SUAS APLICAÇÕES.....	20
TABELA 2 – RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS DOS AMIDOS SUPERION 300 E DUOCAT 355.....	31
TABELA 3 – MATRIZ DO PLANEJAMENTO COM OS VALORES CODIFICADOS E REAIS DAS VARIÁVEIS ESTUDADAS.....	34
TABELA 4 – COR DA RADIAÇÃO ABSORVIDA PELOS COMPRIMENTOS DE ONDA ANALISADOS.....	39
TABELA 5 - RESULTADOS OBTIDOS NA FLOCULAÇÃO DE MICROALGAS UTILIZANDO SOLUÇÃO DE QUITOSANA EM ÁCIDO ACÉTICO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES.....	41
TABELA 6 - INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE QUITOSANA NA EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO E NO PH DO MEIO FAZENDO USO DE QUITOSANA SOLUBILIZADA EM SOLUÇÃO DE ÁCIDO ACÉTICO NA CONCENTRAÇÃO DE 2 G/L.....	44
TABELA 7 - EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO E PH FINAL DO MEIO VARIANDO A CONCENTRAÇÃO DE QUITOSANA E A CONCENTRAÇÃO CELULAR.....	46
TABELA 8 - EFICIÊNCIAS DE FLOCULAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DOS EFEITOS DE CADA VARIÁVEL E DE SUAS INTERAÇÕES.....	48
TABELA 9 - EFICIÊNCIAS DE FLOCULAÇÃO OBTIDAS PARA O PLANEJAMENTO COMPOSTO CENTRAL COM 3 VARIÁVEIS E 17 EXPERIMENTOS.....	51
TABELA 10 - COEFICIENTES DO PLANEJAMENTO COMPOSTO CENTRAL E NÍVEIS DE SIGNIFICÂNCIA DAS VARIÁVEIS ESTUDADAS.....	52
TABELA 11 - EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO USANDO AMIDO SUPERION NA CONCENTRAÇÃO DE 10 G/L.....	62
TABELA 12 – EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO USANDO AMIDO DUOCAT NA CONCENTRAÇÃO DE 10 G/L.....	62
TABELA 13 – EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO FAZENDO A MISTURA DE FLOCULANTES INORGÂNICOS COM TANFLOC.....	63
TABELA 14 - EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO FAZENDO A MISTURA DE FLOCULANTES INORGÂNICOS COM TANFLOC.....	64
TABELA 15 – DADOS COLETADOS PARA REALIZAÇÃO DA ANÁLISE DE CUSTOS SIMPLIFICADA.....	65

TABELA 16 - CUSTOS ENVOLVIDOS NA FLOCULAÇÃO DE 1000 LITROS DE MICROALGAS USANDO TANFLOC E QUITOSANA.....	66
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

4 by 5: Interação entre concentração de tanfloc e quitosana;
A.C.S.: American Chemical Society;
 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$: Sulfato de alumínio;
BMP: Potenciais de metano bioquímico;
CB: Concentração de biomassa;
 CO_2 : Gás carbônico;
COT: Carbono orgânico total;
CQ: Concentração de quitosana;
CT: Concentração de tanfloc;
DO: Densidade ótica;
Exp.: Experimento;
 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$: Sulfato de ferro III
 FeCl_3 : Cloreto de Ferro III
FO4800: Polímero catiônico;
g/L: Gramas/litro;
HCl: Ácido clorídrico;
mg/L: Miligramas/litro;
MSR: Metodologia de superfície de resposta;
nm: nanômetros;
NPDEAS: Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável;
NT: Nitrogênio total;
P.A.: Para análise;
PCC: Planejamento composto central
PES: Polietersulfona;
PF: Planejamento fatorial
P-valor: Nível de significância;
PVC: Policloreto de vinila;
Rpm: Rotações por minuto;
TM: Tempo de mistura;
v/v: Volume/volume;
VM: Velocidade de mistura;
Vs: Versus;

LISTA DE SÍMBOLOS

$+\alpha$: Nível da variável no ponto superior no PCC;
 A^* : DO inicial do meio de cultura;
A: Termo linear referente ao pH;
 A^2 : Termo quadrático referente ao pH;
AB: Termo referente à interação pH e concentração de tanfloc;
AC: Termo referente à interação pH e concentração de biomassa;
 B^* : DO da amostra;
B: Termo linear referente à concentração de tanfloc;
 B^2 : Termo quadrático referente à concentração de tanfloc;
C: Termo linear referente à concentração de biomassa;
i: Coeficiente linear;
j: Coeficiente quadrático;
n: numero de variáveis estudadas;
 V_f : Volume final da suspensão de microalgas;
 V_i : Volume inicial da suspensão de microalgas;
x: Valor real da variável no PCC;
 x_{+1} : Valor da variável no ponto superior no PCC;
 x_0 : Valor da variável no ponto central no PCC;
 x_{-1} : Valor da variável no ponto inferior no PCC;
 x_A : Valor real linear referente ao pH no PCC;
 x_A^2 : Valor real quadrático referente ao pH no PCC;
 x_B : Valor real linear referente à concentração de tanfloc no PCC;
 x_B^2 : Valor real quadrático referente à concentração de tanfloc no PCC;
 x_C : Valor real linear referente à concentração de biomassa no PCC;
 x_n : Valor da variável na forma adimensional no PCC;
y: Resposta da eficiência de floculação;
 $-\alpha$: Nível da variável no ponto inferior no PCC;
 β : Coeficiente de regressão;
 η_f : Eficiência de floculação;

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1. MICROALGAS	18
2.1.1. Gênero <i>Scenedesmus</i>	18
2.2. PRODUÇÃO DE MICROALGAS NO NPDEAS	19
2.3. APLICAÇÕES INDUSTRIAIS DAS MICROALGAS	20
2.4. BIODIESEL A PARTIR DE MICROALGAS.....	20
2.5. MÉTODOS DE RECUPERAÇÃO DA BIOMASSA DE MICROALGAS.....	21
2.5.1. Flocculação	22
2.6. REAPROVEITAMENTO DO CLARIFICADO	26
3. OBJETIVOS	29
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
4.1. MICROALGA	30
4.2. AGENTES FLOCULANTES.....	30
4.2.1. Quitosana	30
4.2.2. Tanfloc	30
4.2.3. Amidos catiônicos	30
4.2.4. Floculantes inorgânicos	31
4.3. Equipamento de <i>Jar Test</i>	31
4.4. FOTOBIOREATORES EMPREGADOS NO CULTIVO DE MICROALGAS: REATORES <i>AIR LIFT</i>	31
4.5. EXPERIMENTOS PRELIMINARES EMPREGANDO QUITOSANA	32
4.6. PLANEJAMENTO FATORIAL FRACIONÁRIO (2^{5-1}).....	33
4.7. PLANEJAMENTO COMPOSTO CENTRAL (PCC).....	34
4.8. REUSO DO CLARIFICADO APÓS FLOCULAÇÃO.....	35
4.9. EXPERIMENTOS USANDO AMIDOS CATIÔNICOS DE MANDIOCA.....	36

4.10. EXPERIMENTOS USANDO FLOCULANTES INORGÂNICOS MISTURADOS COM TANFLOC	36
4.11. ANÁLISE DE CUSTO DA UTILIZAÇÃO DOS FLOCULANTES TESTADOS	36
4.11.1. Processo de floculação em escala ampliada	37
4.11.2. Etapa de redução da umidade do lodo resultante da floculação	37
4.12. METODOLOGIA ANALÍTICA.....	38
4.12.1. Eficiência de floculação	38
4.12.2. Determinação do peso seco	39
4.12.3. Contagem das células	39
4.12.4. Carbono orgânico total (COT) e nitrogênio total (NT)	40
5. RESULTADOS	41
5.1. TESTES PRELIMINARES	41
5.1.1. Avaliação da concentração de quitosana em ácido acético.....	41
5.1.2. Influência do pH inicial da microalga na floculação.....	43
5.1.3. Recuperação de microalga usando quitosana na concentração de 1 g/L e variando a concentração de biomassa	45
5.2. PLANEJAMENTO FATORIAL PARA A ESCOLHA DAS VARIÁVEIS SIGNIFICANTES	47
5.3. MAXIMIZAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO ATRAVÉS DA METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA (MSR) PARA TANFLOC: PLANEJAMENTO COMPOSTO CENTRAL	50
5.3.1. Análise estatística da eficiência de floculação para tanfloc	50
5.3.2. Plotagem da superfície de resposta para a eficiência de remoção para o tanfloc ...	53
5.4. REUSO DO CLARIFICADO APÓS A FLOCULAÇÃO	56
5.5. TESTES INICIAIS DE FLOCULAÇÃO USANDO AMIDOS CATIÔNICOS DE MANDIOCA	61
5.5.1. Floculação usando Superior 300 e DuoCat 355 na concentração 10 g/L	62
5.6. FLOCULAÇÃO USANDO FLOCULANTES INORGÂNICOS E TANFLOC.....	63
5.7. ANÁLISE DE CUSTOS DA OBTENÇÃO DE BIOMASSA USANDO TANFLOC E QUITOSANA.....	65

6. CONCLUSÕES	67
7. TRABALHOS FUTUROS	69
8. REFERÊNCIAS	70

1. INTRODUÇÃO

As microalgas são fontes promissoras de biomassa (Vandamme, Foubert e Muylsert, 2013) e o aumento na demanda biocombustíveis faz com que se busquem novas fontes de matéria-prima. Portanto, o sucesso no cultivo de microalgas em grande escala é um passo chave na produção de biocombustíveis (Smith e Crews, 2014), a fim de alcançar a sustentabilidade econômica, ambiental e energética no processo a partir de microalgas. (Delrue *et al.*, 2015).

Nos últimos anos tem se dado maior atenção às microalgas devido à sua possível utilização como substitutos sustentáveis para derivados de petróleo e produtos combustíveis (Kumar *et al.*, 2011; Singh e Gu, 2010; Willians e Laurens, 2010; Hansel, Riefler e Stuart, 2014). No entanto, o maior problema sobre a utilização da biomassa de microalgas como matéria-prima para biocombustíveis é encontrar um meio econômico e eficaz para separação da biomassa de microalgas e utilização desta em aplicações posteriores (Hansel, Riefler e Stuart, 2014).

Para se utilizar a biomassa, inicialmente ela deve ser extraída do meio de cultura líquido e concentrada até o ponto em que torna o processamento eficaz (Hansel, Riefler e Stuart, 2014; Grima *et al.*, 2002; Xu *et al.*, 2011), sendo que a concentração de biomassa pode contribuir de 20 a 30% nos custos totais de um processo de produção de biocombustíveis (Hansel, Riefler e Stuart, 2014; Grima *et al.*, 2002; Mata, Martins e Caetano, 2009; Sander e Murthy, 2010). O custo para recuperação é elevado devido ao tamanho reduzido das células e às baixas concentrações de biomassa que não permitem que métodos convencionais de separação, como filtração e centrifugação, sejam usados, já que, para tais condições, exigem grandes quantidades de energia (Salim *et al.*, 2011; 't Lam *et al.*, 2014).

Na literatura, há inúmeros trabalhos envolvendo a recuperação de biomassa das microalgas para a produção de biodiesel através da floculação, porém, os resultados apresentados são geralmente em escala laboratorial e os cultivos são realizados em meios de crescimento sintéticos. No entanto, neste e nos demais projetos do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável (NPDEAS) faz-se uso de dejetos suíno diluído para o crescimento do cultivo, o qual deixa de ser descartado indevidamente ou gerar mais custos para tratamento e posterior descarte.

Vários flocculantes tem sido estudados, incluindo flocculantes inorgânicos (sais de cátions polivalentes, como $Al_2(SO_4)_3$, $Fe_2(SO_4)_3$ e $FeCl_3$), os quais devem ser extraídos da

biomassa após a floculação para que a qualidade do biodiesel não seja afetada (Farooq *et al.*, 2015).

Embora Gutiérrez *et al.* (2015) tenham estudado a floculação de microalgas utilizando o tanfloc, os autores utilizaram outras condições, ou seja, trabalharam apenas com quantidades reduzidas de 500 mL para os testes de floculação. Enquanto o presente trabalho se baseou em testes em escala piloto com fotobiorreatores de 12 litros e com alíquotas de 6 a 9 litros para os testes de floculação nos experimentos de reuso do clarificado. Nos testes em que apenas a floculação foi realizada fez-se uso de alíquotas de 2 litros no *Jar Test* e de 1000 litros. Além disso, há o diferencial entre as espécies de microalgas utilizadas e em relação ao reuso do clarificado que foi feito tanto para o tanfloc quanto para a quitosana e que alcançou bons resultados, ou seja, alta eficiência de floculação e alta taxa de crescimento de biomassa.

Para o reaproveitamento de água, quanto menor for a influência de um floculante nas características do clarificado (pH, resíduos tóxicos, etc) maior será a capacidade de reuso deste sem alterar o crescimento das microalgas, viabilizando ainda mais o processo. Pois se sabe que a grande quantidade de água necessária para o cultivo de microalgas é uma das maiores desvantagens para o desenvolvimento do processo industrial. Assim a produção de biodiesel a partir de microalgas pode ser ambientalmente sustentável se o consumo de água for reduzido (Farooq *et al.*, 2015).

Pesquisas que envolvem a floculação de microalgas concluíram que mais estudos sobre o assunto são fundamentais, pois podem conduzir a métodos que evitem a contaminação da biomassa a fim de não interferir na qualidade do biodiesel (Vandamme, Foubert e Muylaert, 2013). Assim, busca-se, através deste trabalho, maior conhecimento sobre o tema a fim de contribuir para alcançar a sustentabilidade econômica e ambiental do processo de floculação de microalgas e reaproveitamento do clarificado.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. MICROALGAS

Microalga é um termo utilizado para designar organismos unicelulares ou coloniais presentes em ambientes aquáticos ou úmidos. As algas são seres muito diversos e, em sua maioria, fotossintetizantes. O termo alga define organismos muito distintos entre si quanto sua origem, o qual se divide em dois grupos: as macroalgas (algas com dimensões macroscópicas) e as microalgas (algas de dimensão microscópicas). Coletivamente, as algas constituem um grupo de extrema importância ecológica, uma vez que, em sistemas aquáticos, são as maiores responsáveis pela produção primária, contribuindo dessa maneira para a manutenção dos ciclos biogeoquímicos e sustentação da cadeia alimentar (Corrêa, 2015).

2.1.1. Gênero *Scenedesmus*

Scenedesmus é o gênero de algas verdes que se diferem principalmente no número de células e que se apresenta na forma de colônias de múltiplos de 2, chegando a 32 células por colônia e, raramente, dependendo das condições de cultivo, são unicelulares (Lee, 2008). O formato unicelular permite uma maior estabilidade no meio e a sua razão superfície/volume capta mais nutrientes e luz solar. As células podem ser elipsoides, ovóides, fusiformes e podem ser todas iguais ou as externas serem de uma forma e as internas de outra (Lee, 2008), conforme mostrado na Figura 1. Estas algas são comumente encontradas no plâncton de água doce de rios, lagos e lagoas.

FIGURA 1 - MICROALGAS DO GÊNERO *SCENEDESMUS*.

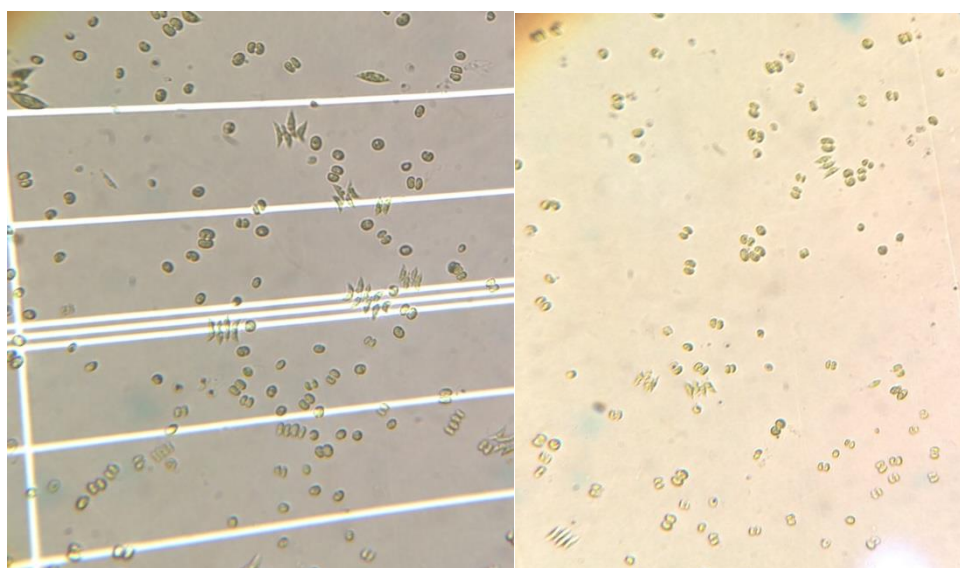


O teor de lipídios das microalgas do gênero *Scenedesmus* pode variar de 10 - 70% em cultivos padrões, entretanto pela experiência do grupo que atua no NPDEAS,

esses valores acima de 30% de teor de lipídios são difíceis de serem alcançados em larga escala (Selesu, 2015).

A Figura 2 apresenta fotos através de microscopia eletrônica das microalgas provenientes dos cultivos fazendo o reuso do clarificado. Imagens como esta foram captadas diariamente para fazer a contagens das células. Nela é possível notar as diversas formas e tamanhos que a microalga *Scenedesmus* pode assumir, além da formação de colônias, assim como na Figura 1.

FIGURA 2 - MICROALGAS *SCENEDESMUS* SP. PROVENIENTES DOS CULTIVOS FAZENDO O REUSO DO CLARIFICADO.



FONTE: Autora, 2015.

2.2. PRODUÇÃO DE MICROALGAS NO NPDEAS

O Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável busca sua sustentabilidade energética a partir da produção de biodiesel gerado com lipídios provenientes da biomassa de microalgas. Após o período de cultivo em fotobiorreatores tubulares seguem as etapas de colheita, com retirada de volumes específicos de meio; processamento da biomassa por floculação; redução da umidade através de centrifugação; secagem em estufa; e extração de lipídios que são utilizados para a produção do biodiesel. Ao final do ciclo de produção de biomassa e geração de biodiesel, o combustível é utilizado para abastecer um sistema gerador de eletricidade responsável por suprir a demanda energética de todo o complexo (Corrêa, 2015).

Paralelamente ao processamento da biomassa citado, há vários estudos em andamento envolvendo diversos alunos de mestrado e doutorado, como as pesquisas

fazendo uso de floculantes naturais e mistura de floculantes e reaproveitando do clarificado obtido da floculação nos cultivos subsequentes que são temas deste trabalho.

2.3. APLICAÇÕES INDUSTRIAIS DAS MICROALGAS

As microalgas possuem nas suas estruturas moleculares diversos compostos orgânicos com grandes potencialidades comerciais na indústria alimentícia, cosmética, de saúde, energética, etc (Selesu, 2015). A Tabela 1 apresenta alguns produtos extraídos das microalgas e suas aplicações no cotidiano.

TABELA 1 - PRODUTOS DE ALTO VALOR AGREGADO DAS MICROALGAS E SUAS APLICAÇÕES.

Produtos	Aplicações
Alimentos	Suplemento proteico/ fortificação de dietas de adultos e crianças desnutridas.
Alimentação animal	Suplemento de proteínas e vitaminas para peixes, aves e frutos do mar.
Terapia	Produção de pigmentos para tratamento de câncer. Regulação da síntese de colesterol. Produção de antibióticos.
Pigmentos	Produção de pigmentos para indústria alimentícia e reagentes analíticos.
Química Fina	Polissacarídeos para gomas. Glicerol para alimentos, cosméticos.
Combustíveis	Extração de lipídios para produção de biocombustíveis: biodiesel, hidrogênio, biogás.
Hormônios	Auxinas, giberilinas.
Outros	Condicionador de solos. Tratamento de efluentes: bovino, suíno e sanitário.

FONTE: Adaptado - Becker, 1994.

O tópico a seguir abordará o uso das microalgas na produção de biodiesel mais detalhadamente, uma vez que a finalidade deste trabalho é a recuperação de biomassa de microalgas para a produção de biodiesel.

2.4. BIODIESEL A PARTIR DE MICROALGAS

É cada vez mais evidente que o uso continuado de recursos energéticos oriundos de fontes não renováveis é insustentável devido às emissões de gases causadores do efeito estufa associados à sua utilização. Por essa razão, é crescente o número de pesquisas voltadas para o desenvolvimento de combustíveis renováveis, bem como de tecnologias capazes de reduzir os efeitos ambientais decorrentes da crescente emissão de gases danosos ao ambiente. (Demirbas, 2011; Corrêa, 2015).

As microalgas tem se mostrado uma alternativa viável para a produção de biodiesel por serem fáceis de cultivar, seu tempo de cultivo ser relativamente curto (100 vezes mais rápido do que as plantas terrestres) e por não competir por espaços

cultiváveis com as *commodities* alimentícias, além de apresentar elevado teor de lipídios (Gong e Jiang, 2011; Jian, Sommer e Christensen, 2011; Sharma, Schuhmann e Schenk, 2012; Selesu, 2015).

A diversidade lipídica existente na microalga é vasta e a composição média das microalgas conta com um teor lipídico que equivale entre 30-70% do seu peso seco (Andersen, 2013; Hu, 2013; Selesu, 2015). As microalgas apresentam índices de produtividades melhores que as fontes de biodiesel convencionais (oleaginosas como soja, milho e girassol) quando se considera a área ocupada e apresentam um rendimento 100 vezes maior do que o rendimento de biodiesel a partir da soja, podendo ser cultivadas sob condições ambientais críticas nas quais as oleaginosas convencionais não crescem, tais como águas residuais com presença de substâncias em concentrações consideradas tóxicas para as fontes convencionais agrícolas (Brennan e Owende, 2010; Chen *et al.*, 2011; Selesu, 2015).

Ainda que a literatura científica aponte o potencial das microalgas em relação à produção de lipídios e conseqüentemente a geração de biodiesel, o processo de extração do óleo da biomassa ainda se apresenta como um dos maiores desafios para viabilizar a tecnologia de produção de biodiesel de microalgas, bem como as dificuldades relacionadas à geração de biomassa (Corrêa, 2015).

2.5. MÉTODOS DE RECUPERAÇÃO DA BIOMASSA DE MICROALGAS

Para uso como matéria-prima industrial, a biomassa de microalgas produzida nos fotobiorreatores encontra-se muito diluída, sendo necessários processos que a concentrem em torno 100-500 vezes mais que a suspensão inicial. Este aumento de concentração é alcançado usando operações unitárias criteriosamente selecionadas nos quais se consideram custo energético global do processo e a dificuldade operacional no pós-processamento da biomassa resultante (Uduman, Qi e Danquah, 2010; Chen *et al.*, 2011; Lu Chen *et al.*, 2013; Selesu, 2015).

As principais técnicas usadas na recuperação de biomassa de microalgas são a centrifugação, floculação, filtração, sedimentação gravitacional, flotação e técnicas de eletroforese, e cada uma destas apresenta vantagens e desvantagens (Uduman, Qi e Danquah, 2010; Chen *et al.*, 2011; Lu Chen *et al.*, 2013; Selesu, 2015).

A centrifugação e a eletroflotação são processos eficientes, porém muito onerosos devido ao alto consumo energético enquanto que a filtração demanda trabalho braçal constante para troca de filtros e toma muito tempo. Já a floculação é um processo de baixo custo energético se optar-se por um flocculante de custo reduzido que não

encareça o processo (Uduman, Qi e Danquah, 2010; Chen *et al.*, 2011; Lu Chen *et al.*, 2013; Selesu, 2015).

2.5.1. Floculação

Como, atualmente, o maior inconveniente do uso de microalgas na produção de biocombustíveis ainda está relacionado ao custo do processo (Rawat *et al.*, 2013; Lucas-Salas, Castrillo e Martínez, 2013), a floculação tem sido identificada como alternativa por ser uma tecnologia de colheita de baixo custo, como já citado no item 2.5. Estudos relataram que a floculação em combinação com sedimentação usando biofloclantes pode reduzir a demanda de energia de centrifugação após a floculação (‘t Lam *et al.*, 2014; Salim, Vermuë e Wijffels, 2012).

Sais metálicos e polímeros carregados positivamente tem sido tradicionalmente utilizados em operações de floculações (Hansel, Riefler e Stuart, 2014; Grima *et al.*, 2002). No entanto, estes produtos químicos não são adequados para produção de biomassa de microalgas, porque produzem uma biomassa comercialmente inviável (Hansel, Riefler e Stuart, 2014; Lee, Lewis e Ashman, 2008; Sharma, Schuhmann e Schenk, 2006), uma vez que os sais metálicos, tais como sulfato de alumínio, contaminam a alga floculada (Hansel, Riefler e Stuart, 2014; Lee *et al.*, 2008), e os polímeros carregados positivamente, tais como poliacrilamidas catiônicas, são conhecidos por decomporem-se em seus substituintes monoméricos que são neurotóxicos e carcinogênicos (Hansel, Riefler e Stuart, 2014; Yuping, Cheng e Zheng, 2008). Assim, a solução seria encontrar um produto químico alternativo barato e capaz de flocular eficientemente as microalgas sem contaminar a biomassa. O uso de floclantes orgânicos de origem animal e vegetal torna-se uma alternativa promissora aos floclantes inorgânicos, pois são biodegradáveis, naturais e não tóxicos (Hansel, Riefler e Stuart, 2014; Yuping, Cheng e Zheng, 2008).

A floculação é uma etapa importante no processo de produção de biodiesel, pois a partir dela determinam-se os custos relacionados tanto à centrifugação quanto ao reaproveitamento de água. A escolha de um floclante que proporcione um menor volume de biomassa após a floculação é essencial para diminuição do tempo de centrifugação, já que esta é uma operação de custo elevado.

2.5.1.1.Floculantes inorgânicos

2.5.1.1.1. Sulfato de Ferro III

É estável num intervalo de pH de 4 a 11 e é um dos coagulantes mais conhecidos. Produz flocos grandes e densos que decantam rapidamente, por isso é indicado na precipitação preliminar e na co-precipitação de águas residuais urbanas e industriais. É também utilizado no tratamento de águas potáveis embora em alguns casos possa causar problemas de coloração (Aguilar, 2002).

2.5.1.1.2. Cloreto de Ferro III

Quando se dissolve em água, o cloreto de ferro III sofre uma hidrólise e libera calor através de uma reação exotérmica. O resultado é uma solução ácida e corrosiva que se utiliza como coagulante no tratamento de águas residuais e na potabilização de água (Del Cinca, 2016).

2.5.1.1.3. Sulfato de Alumínio

O sulfato de alumínio é usado extensamente como floculante no tratamento de águas residuais, águas potáveis e piscinas. Permite que a matéria orgânica e inorgânica em suspensão se associe em partículas maiores (flocos).

Quando o pH da solução é neutro, em torno a 7, o alumínio sofre precipitação, arrastando as partículas em suspensão e deixando a solução límpida (tratamentos de coagulação/floculação) (Del Cinca, 2016).

2.5.1.1.4. Sulfato de Ferro II

O sulfato ferroso ou sulfato de ferro II é um sal inorgânico utilizado na medicina, percussor para síntese de corantes, catalisador em reações para graduação de contaminantes orgânicos, floculante para o tratamento de água, etc (Ribeiro, Borges e Lupianhes, 2010).

No laboratório, é razoavelmente fácil a obtenção desta substância por meio da reação de ferro e solução de ácido sulfúrico, sendo necessário utilizar excesso de um dos reagentes (Ribeiro, Borges e Lupianhes, 2010).

2.5.1.2.Floculantes Naturais

2.5.1.2.1. Quitosana

Dentre os floculantes naturais, a quitosana, por ser um composto de origem animal e biodegradável, tem sido amplamente utilizada, porém ela possui um custo muito elevado (R\$ 80,00/kg), portanto, a procura de agentes floculantes potenciais ainda se faz necessária com o intuito de se reduzir o custo da biomassa de forma global (Selesu, 2015), pois atualmente o maior inconveniente do uso de microalgas na produção de biodiesel ainda está relacionado ao custo do processo (Lucas-Salas, Castrillo e Martínez, 2013).

A quitosana é obtida por uma reação de hidrólise alcalina da quitina e apresenta em sua cadeia aproximadamente 70-90% de grau de desacetilação (Spinelli, 2001).

A transformação da quitina em quitosana modifica suas propriedades, de modo que a quitosana é insolúvel em água e solúvel na maior parte dos ácidos orgânicos, como o ácido acético e fórmico e também em ácidos inorgânicos como HCl (Spinelli, 2001).

2.5.1.2.2. Tanfloc

Uma alternativa ao uso de quitosana é o tanfloc, composto de origem vegetal à base de tanino com alto potencial de floculação, que apresenta um custo de aquisição relativamente baixo (R\$ 10,00/kg). Entretanto, o seu uso em processo de floculação é pouco estudado na literatura, ainda que em tratamentos de água tenha se mostrado bastante promissor.

Tanfloc é uma marca comercial da empresa TANAC (Brasil) (Tanac, 2014) e é um produto à base de tanino modificado por um processo físico-químico com um elevado poder floculante. É obtido a partir da casca da acácia negra, uma árvore comum no Brasil que se caracteriza por sua alta concentração de taninos. O processo de produção industrial de Tanfloc está protegido por patentes de propriedade intelectual, mas os procedimentos são semelhantes às reações de Mannich (Tramontini e Angiolini, 1994). De acordo com a especificação da TANAC, Tanfloc é principalmente constituído de estruturas flavonóides com um peso molecular médio de 1,7 kDa. Mais grupos como, gomas hidrocolóides e outros sais solúveis, estão incluídos na estrutura do tanfloc. A modificação química inclui o nitrogênio quaternário que dá ao tanfloc o caráter catiônico, o que faz com que se mostre eficaz em tratamento de águas residuais (Heredia e Martin, 2009; Heredia e Martin, 2011).

As Figuras 3 e 4 mostram carregamentos de acácia negra, matéria-prima para produção de tanfloc, e o produto já industrializado pronto para uso, respectivamente.

FIGURA 3 – ACÁCIA NEGRA, MATÉRIA-PRIMA PARA PRODUÇÃO DE TANFLOC.



FONTE: Castro, 2002.

FIGURA 4 – TANFLOC PRONTO PARA USO PRODUZIDO PELA TANAC.



FONTE: Autora, 2016.

Recentemente, Gutiérrez *et al.* (2015) trabalharam com a recuperação de biomassa através da coagulação-floculação e sedimentação com floculantes naturais (ecotan e tanfloc) de microalgas cultivadas em lagoas de altas taxas de crescimento. Os autores também constataram através de testes potenciais de metano bioquímico (BMP) que nenhum impacto negativo em termos de pH e biodegradabilidade anaeróbia afetou o processo de produção de biocombustíveis, ou seja, não foi observada a redução do pH após a floculação nem mudanças nas características da biomassa que pudessem afetar seu uso na produção de outras substâncias, demonstrando que o ecotan e o tanfloc seriam adequados para a colheita de biomassa de microalgas e subsequente geração de biogás.

Como na produção de biogás Gutiérrez *et al.* (2015) comprovaram a neutralidade do ecotan e tanfloc, já que através de experimentos constataram que realmente não há

necessidade de sua remoção para posterior uso da biomassa para produção de biogás, espera-se que na produção de biodiesel se tenha mesmo o comportamento.

2.5.1.2.3. Amidos catiônicos

Um dos amidos modificados com bastante utilização industrial é o catiônico. Ele é derivado de amido com reagentes que possuem radicais imina, amina, amônio, sulfona e fosfônio, todos com cargas positivas. (Cereda, 2002; Trindade Filho, 2009).

Uma das principais características do amido catiônico é ser atraído por partículas ou superfícies de cargas opostas (materiais aniônicos) (Cereda, 2002; Trindade Filho, 2009). Isto é de extrema importância no auxílio da floculação de partículas em suspensão, ajudando na aglomeração e compactação de matéria que acaba por formar conjuntos maiores denominados “flocos”, que por serem maiores e mais densos são fáceis de sedimentar (Trindade Filho, 2009).

2.6. REAPROVEITAMENTO DO CLARIFICADO

Além do custo com a recuperação da biomassa, a comercialização de biodiesel de microalgas também é dificultada pelo elevado custo de nutrientes e água que são essenciais para o crescimento do cultivo (Davis, Aden e Pienkos, 2011; Farooq *et al.*, 2015). A demanda elevada de água necessária para o processo faz com que se busquem alternativas para que tal demanda seja reduzida, como o reaproveitamento do clarificado nos cultivos subsequentes. Consequentemente, com a reutilização do clarificado, busca-se reduzir a quantidade de nutrientes necessária para os novos cultivos ao reciclar os nutrientes não absorvidos nos cultivos anteriores.

Através de dados da literatura é possível observar a importância do reciclo de água e nutrientes, pois para a produção de 1 kg de biodiesel é necessário em torno de 3000 L de água e para a produção de 39 milhões de litros de biocombustível são requeridos cerca de 6 a 15 milhões de toneladas métricas de azoto e cerca de 1 a 2 milhões de toneladas métricas de fósforo. Portanto, a reciclagem de água após a colheita pode economizar até 84% de água e 55% de nutrientes essenciais, tais como nitrato e fosfato e torna-se necessária para a produção econômica e sustentável de biocombustíveis microalgas (Yang *et al.*, 2011; Farooq *et al.*, 2015)

Castrillo *et al.* (2013) exploraram o reuso do sobrenadante tanto na floculação quanto na centrifugação, comparando-os com o uso de água de grau analítico e água da torneira, buscando avaliar o crescimento das microalgas nesses meios. As espécies

utilizadas foram *Scenedesmus obliquus* e *Chlorella vulgaris* e em ambas foi possível observar o crescimento do cultivo fazendo uso do sobrenadante no meio de cultura.

Da mesma maneira, este trabalho fez uso do sobrenadante para cultivos posteriores e obteve altas taxas de crescimento das microalgas, porém fez uso apenas a alga *Scenedesmus* sp. e da floculação anterior a centrifugação como método de separação, uma vez que o uso apenas da centrífuga encarece muito os custos da separação, tornando-se inviável.

Com relação aos estudos de Castrillo *et al.* (2013) buscou-se simplificar o processo de reuso, pois os autores filtravam o sobrenadante em filtros de polycarbonato antes de iniciar o novo cultivo e esterilizavam os meios de cultivo em autoclave antes de inserir o inóculo.

Estudos feitos por Farroq *et al.* (2015) buscaram altas taxas de crescimento da *Chlorella vulgaris* fazendo o reuso do clarificado sem afetar a qualidade do biodiesel, a fim de reduzir os custos do processo. Os autores desenvolveram a pesquisa fazendo uso de três métodos de separação: centrifugação, floculação usando FeCl_3 e floculação utilizando alumínio. No reuso feito com o sobrenadante proveniente da centrifugação e da floculação com FeCl_3 pode-se observar uma melhora no crescimento das células de microalgas até o quarto ciclo, onde os testes foram interrompidos, todavia, o reuso a partir do sobrenadante proveniente da floculação com alumínio apresentaram resultados muito ruins, uma vez que o crescimento das células foi inibido devido à toxicidade do alumínio residual. Mesmo com o sucesso nos experimentos fazendo o reaproveitamento do clarificado proveniente da floculação utilizando FeCl_3 não há como escapar da etapa de remoção de ferro da biomassa recuperada. Tal remoção pode ser feita antes ou depois da produção do biodiesel, porém é uma etapa que não pode ser negligenciada para que não seja afetada a qualidade do biocombustível produzido. Já no método de separação apenas por centrifugação não há tal inconveniente, porém o processo de separação provavelmente se tornará inviável economicamente devido ao alto custo da centrifugação.

Delrue *et al.* (2015) estudaram o reuso do clarificado proveniente da floculação da *Chlamydomonas reinhardtii* com quitosana, FO4800 (polímero catiônico) e cloro-sulfato de polialumínio, investigando o impacto dos floclantes na produtividade de microalgas. Assim como outros autores, Delrue *et al.* (2015) filtraram o sobrenadante em membranas de polietersulfona (PES) de 0,2 μm . Através dos testes realizados os autores não observaram interferência imediata e aguda devido à toxicidade de resíduos dos floclantes no clarificado reaproveitado. Entretanto, depois de sete dias de experimentos,

observaram-se diferentes efeitos na taxa crescimento e produção de biomassa, aumento e queda conforme cada floculante empregado.

Assim, mais estudos relacionados ao reaproveitamento do clarificado devem ser feitos, uma vez que o reciclo do meio de cultivo é um passo crucial para sustentabilidade econômica e ambiental da produção de microalgas.

3. OBJETIVOS

Como o uso do tanfloc ainda se restringe um pouco a processos como tratamento de água, buscou-se inovar utilizando-o para recuperação de biomassa para produção de biodiesel, pois é um composto orgânico que, assim como a quitosana, proporciona bons resultados com relação à floculação com custos bem menores.

Portanto, o objetivo geral deste trabalho foi verificar a eficiência de floculação usando floclulantes naturais, a combinação destes com floclulantes inorgânicos e avaliar o reuso da água e qualidade da biomassa após cultivos sucessivos visando constatar a viabilidade do processo. Os objetivos específicos foram:

- Em equipamentos *Jar Test*, verificar a influência das variáveis pH, concentração de floclulante, concentração de microalgas nas respostas eficiência de floculação e volume de lodo;
- Comparar o uso de diferentes floclulantes naturais em relação à eficiência de floculação;
- Analisar o custo da centrifugação após a etapa de floculação de 1000 litros de suspensão de microalgas com tanfloc e quitosana.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. MICROALGA

A microalga *Scenedesmus* sp. para realização dos testes de floculação era proveniente do NPDEAS, a qual foi cultivada em fotobiorreatores através de uma rota fotoautotrófica usando água e efluente de dejetos suíno com 2,5% (v/v) como meio de cultura. As culturas frescas empregadas foram removidas dos fotobiorreatores após 15 dias de crescimento na fase exponencial. Os fotobiorreatores foram mantidos em condições ambientais de temperatura, irradiação e supridos por ar comprimido com 0,04% (v/v) de CO₂.

4.2. AGENTES FLOCULANTES

4.2.1. Quitosana

O pó de quitosana utilizado (Polymar Ciência e Nutrição S/A) foi dissolvido em diversas concentrações (1; 2,5; 4 e 5 g/L) em ácido acético (1%) (v/v) (VETEC) empregando um agitador magnético ou mecânico para a solubilização total da mistura à temperatura ambiente.

4.2.2. Tanfloc

Uma solução de Tanfloc SG (TANAC BRASIL) foi empregada no estudo na concentração de 20 g/L preparada em água.

4.2.3. Amidos catiônicos

Os amidos catiônicos de mandioca diluídos em água foram utilizados nas concentrações de 1, 5, 10 e 30 g/L para verificar o comportamento dos amidos. Os amidos utilizados foram gentilmente cedidos pela Horizonte Amidos, sendo eles: Superion 300 e DuoCat 355.

Os amidos utilizados são quimicamente modificados e com caráter catiônico, porém o DuoCat 355 possuía alto peso molecular e alta viscosidade (Horizonte, 2015).

Na Tabela 2 estão apresentados os certificados físico-químicos gentilmente cedidos pela Horizonte Amidos dos produtos utilizados nos testes.

TABELA 2 – RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS DOS AMIDOS SUPERION 300 E DUOCAT 355.

Amido	pH	Umidade (%)
Superion 300	5,53	11,5
DuoCat 355	5,9	12,5

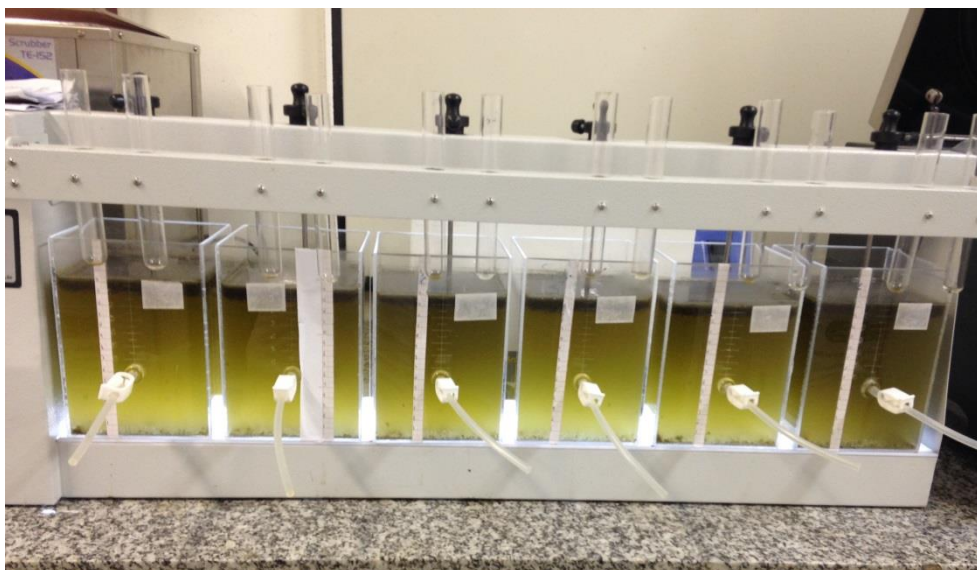
FONTE: Horizonte Amidos, 2015.

4.2.4. Floculantes inorgânicos

Os floculantes inorgânicos utilizados foram: Sulfato de ferro III hidratado P.A. (Neon Comercial), Cloreto de ferro III P.A. – A.C.S. hexahidratado (Alphatec), Sulfato de alumínio P.A. (Dinâmica Química Contemporânea Ltda) e Sulfato de Ferro II heptahidratado P.A. (Neon Comercial). As soluções foram preparadas separadamente em água na concentração de 1 g/L.

4.3. Equipamento de *Jar Test*

O equipamento de *Jar Test* utilizado nos experimentos está apresentado na Figura 5. O *Jar Test* era constituído de seis provas em que eram utilizados jarros de 2 litros de volume útil.

FIGURA 5 – EQUIPAMENTO DE *JAR TEST* UTILIZADO NOS EXPERIMENTOS.

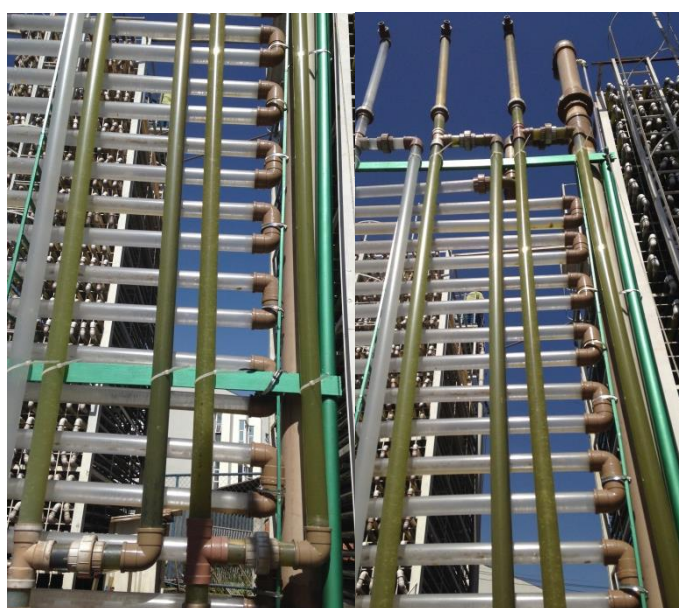
FONTE: Autora, 2015.

4.4. FOTOBIOREATORES EMPREGADOS NO CULTIVO DE MICROALGAS: REATORES *AIR LIFT*

Os reatores *Air Lift* são fotobiorreatores tubulares que foram desenvolvidos com o objetivo de tratar efluentes líquidos e emissões poluentes através do cultivo autotrófico de microalgas pelo laboratório NPDEAS. O reator era composto por uma válvula de entrada inferior de ar ou gás que foram difundidos ao passar por uma membrana porosa. Essa

membrana propiciou a criação de microbolhas na coluna ascendente de transporte de gases. Vale salientar que a aeração por microbolhas melhora a troca gasosa bem como a purificação de gases. Além disso, a aeração promove a circulação do meio, dispensando a utilização de bombas. Após 15 dias de cultivo as microalgas já estão em condições ideais para recuperação de biomassa. Se a colheita for adiada a células começam a morrer, reduzindo, assim, a concentração de biomassa e a quantidade de células. Os fotobiorreatores foram construídos em PVC transparente, com um diâmetro interno de 5 cm e uma altura de 300 cm, perfazendo um volume nominal de trabalho de 12 litros conforme ilustrado na Figura 6.

FIGURA 6 – FOTOBIORREADORES DO TIPO AIR LIFT UTILIZADO NO CULTIVO DA ESPÉCIE *SCENEDESMUS SP.*



FONTE: Autora, 2015.

4.5. EXPERIMENTOS PRELIMINARES EMPREGANDO QUITOSANA

Foram realizados experimentos com quitosana em escala laboratorial em equipamento de *Jar Test* (Milan Equipamentos Científicos), a fim de selecionar e otimizar as variáveis importantes para a floculação das microalgas. As variáveis estudadas foram:

- 1) Concentração de quitosana solubilizada em ácido acético (1 a 5 g/L) em pH 10;
- 2) Concentração de quitosana (5 a 25 mg/L) na suspensão de microalga em pH 10;
- 3) pH inicial da suspensão de microalga (5,3 a 10,7);
- 4) Concentração de biomassa (0,264 a 0,528 g/L).

A temperatura empregada foi a ambiente, 34 ± 2 °C (Simepar, 2014). As respostas analisadas foram pH final e eficiência de floculação em diferentes comprimentos de onda (540, 670 e 750 nm).

4.6. PLANEJAMENTO FATORIAL FRACIONÁRIO (2^{5-1})

O objetivo deste planejamento foi avaliar as variáveis significativas na resposta eficiência de floculação. Um planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} com 16 ensaios em *Jar Test* (Milan Equipamentos Científicos) foi realizado para testar as variáveis, sendo realizado em triplicata para determinar os efeitos de cada variável e suas interações. Os resultados foram analisados pelo software *Statistica 7.0* (StatSoft ®) para verificar os principais efeitos das seguintes variáveis adotadas: pH, velocidade de mistura (VM), tempo de mistura (TM), concentração de tanfloc (CT) e concentração de quitosana (CQ). A análise de variância (ANOVA) foi realizada e os principais efeitos da variável independente foram calculados tendo em consideração o nível de significância de 95% ($p < 0,05$).

Foram realizados testes preliminares para verificar os níveis (-1) e (+1) das variáveis codificadas. Para TM o nível (-1) corresponde ao tempo de 5 minutos e o nível (+1) corresponde ao tempo de 10 minutos, uma vez que tempos inferiores a 5 minutos foram constatados em ensaios preliminares como insuficientes para ocorrer a agregação das partículas e tempos superiores a 10 minutos não geram melhores respostas em relação à eficiência de floculação a ponto de se estender o tempo de mistura. Para VM o nível (-1) corresponde a 50 rpm e o nível (+1) corresponde a 100 rpm, pois velocidades inferiores a 50 rpm são insuficientes para ocorrer a agregação das partículas e velocidades superiores a 100 rpm provocam a quebra de flocos já formados. Como a eficiência de floculação depende fortemente do pH, buscou-se fixar valores que gerassem altas eficiências de floculação sem que fosse necessário reduzir muito o pH da suspensão de microalgas, assim, o nível (-1) corresponde ao pH 8 e o nível (+1) corresponde ao pH 10. Para a concentração de tanfloc e quitosana os níveis (+1) correspondeam às condições otimizadas por Selesu (2015), 210 e 25 mg/L, respectivamente, e os níveis (-1) correspondem aos experimentos sem adição de tanfloc ou quitosana. Na Tabela 3 está apresentada a matriz do planejamento com os valores codificados e reais das variáveis estudadas.

TABELA 3 – MATRIZ DO PLANEJAMENTO COM OS VALORES CODIFICADOS E REAIS DAS VARIÁVEIS ESTUDADAS.

Exp.	TM (min)	VM (rpm)	pH	CT (mg/L)	CQ (mg/L)
1	5 (-1)	50 (-1)	8 (-1)	0 (-1)	25 (+1)
2	10 (+1)	50 (-1)	8 (-1)	0 (-1)	0 (-1)
3	5 (-1)	100 (+1)	8 (-1)	0 (-1)	0 (-1)
4	10 (+1)	100 (+1)	8 (-1)	0 (-1)	25 (+1)
5	5 (-1)	50 (-1)	10 (+1)	0 (-1)	0 (-1)
6	10 (+1)	50 (-1)	10 (+1)	0 (-1)	25 (+1)
7	5 (-1)	100 (+1)	10 (+1)	0 (-1)	25 (+1)
8	10 (+1)	100 (+1)	10 (+1)	0 (-1)	0 (-1)
9	5 (-1)	50 (-1)	8 (-1)	210 (+1)	0 (-1)
10	10 (+1)	50 (-1)	8 (-1)	210 (+1)	25 (+1)
11	5 (-1)	100 (+1)	8 (-1)	210 (+1)	25 (+1)
12	10 (+1)	100 (+1)	8 (-1)	210 (+1)	0 (-1)
13	5 (-1)	50 (-1)	10 (+1)	210 (+1)	25 (+1)
14	10 (+1)	50 (-1)	10 (+1)	210 (+1)	0 (-1)
15	5 (-1)	100 (+1)	10 (+1)	210 (+1)	0 (-1)
16	10 (+1)	100 (+1)	10 (+1)	210 (+1)	25 (+1)

TM: tempo de mistura, VM: velocidade de mistura, CT: concentração de tanfloc e CQ: concentração de quitosana. FONTE: Autora, 2015.

4.7. PLANEJAMENTO COMPOSTO CENTRAL (PCC)

Após avaliação das melhores condições de processo avaliado no primeiro planejamento (item 4.6) foi necessário estabelecer nesta etapa condições favoráveis para utilização do tanfloc como agente flocculante. Os fatores que afetam o processo de floculação incluindo pH (4,6–11,4), concentração de tanfloc (23,5–226,5 mg/L) e concentração de biomassa (0,264–0,581 g/L) foram avaliados. Os efeitos destes fatores sobre a eficiência de floculação da biomassa foram avaliados e otimizados através da metodologia de superfície de resposta (MSR).

No PCC também foi utilizado *Jar Test* (Milan Equipamentos Científicos) para realização dos testes. O *software Statistica 7* foi empregado para a análise de regressão dos resultados experimentais e para geração das superfícies de respostas e curvas de

contorno. Os experimentos foram baseados em um planejamento composto central (PCC) com um modelo quadrático empregado para estudar os efeitos combinados das variáveis independentes sobre a eficiência de floculação. Cada variável foi variada em cinco níveis $(-\alpha, -1, 0, +1, +\alpha)$. Para o desenvolvimento da metodologia, as variáveis foram adimensionalizadas fazendo uso da Equação 1.

$$x_n = \frac{x - x_0}{\frac{x_{+1} - x_{-1}}{2}} \quad \text{Eq. 1}$$

Onde x_n foi o valor da variável na forma adimensional, x o valor real da variável, x_0 o valor da variável no ponto central, x_{+1} o valor da variável no ponto superior e x_{-1} o valor da variável no ponto inferior.

A eficiência de floculação foi usada como variável dependente (resposta). Os experimentos foram realizados em triplicata. Uma equação quadrática de segunda ordem polinomial, apresentada na Equação 2, foi ajustada para avaliar os principais efeitos e interações de cada variável independente com as respostas atingidas.

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^n \beta_i x_i + \sum_{i < j} \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{i=j}^n \beta_{ji} x_i^2 \quad \text{Eq. 2}$$

Onde y representa a resposta eficiência de floculação, i e j são os coeficientes lineares e quadráticos, β o coeficiente de regressão, n o numero de variáveis estudadas no experimento, e x as variáveis independentes estabelecidas (pH, concentração de tanfloc (mg/L) e concentração de biomassa (g/L)).

4.8. REUSO DO CLARIFICADO APÓS FLOCULAÇÃO

Foram utilizados 4 equipamentos *Air Lift* para testes de floculação da microalga *Scenedesmus sp.* utilizando tanfloc e quitosana para comparação de resultados e comprovação da viabilidade do uso do tanfloc. Além disso, foram realizados testes de reuso do clarificado para os cultivos seguintes.

O tempo de experimento foi de 15 dias para cada cultivo. Após o 1º cultivo (sem a adição de floculante) foi realizado a floculação com as concentrações de floculante determinadas nos experimentos em bancada (item 4.6. e 4.7.). O clarificado foi retornado ao *Air Lift*, a concentração celular foi reajustada para a condição inicial (200×10^4 células/mL) e foi adicionando 2,5% (v/v) de efluente de dejetos suíno para, assim, iniciar um novo cultivo. Foram realizadas 4 floculações, sendo que o clarificado foi reaproveitado três vezes.

4.9. EXPERIMENTOS USANDO AMIDOS CATIÔNICOS DE MANDIOCA

Inicialmente testaram-se soluções sem o aumento de temperatura até atingir a gelatinização. Posteriormente testaram-se soluções de 10 e 30 g/L elevando a temperatura até a gelatinização, conforme encontrado na literatura (Coelho *et al.*, 2010).

Os testes de floculação foram realizados em *Jar Test* (Milan Equipamentos Científicos) com as condições otimizadas de tempo de mistura e velocidade de agitação através do planejamento fatorial fracionário apresentado no item 4.6.

4.10. EXPERIMENTOS USANDO FLOCULANTES INORGÂNICOS MISTURADOS COM TANFLOC

Os floculantes inorgânicos foram utilizados na concentração de 1 g/L e o tanfloc na concentração de 20 g/L. A concentração dos floculantes na suspensão de microalgas variaram de 10 a 100 mg/L.

Os testes de floculação foram realizados em *Jar Test* (Milan Equipamentos Científicos) com as condições otimizadas de tempo de mistura e velocidade de agitação através do planejamento fatorial fracionário apresentado no item 4.6.

4.11. ANÁLISE DE CUSTO DA UTILIZAÇÃO DOS FLOCULANTES TESTADOS

Buscando analisar a viabilidade do uso do tanfloc e da quitosana na recuperação de biomassa proveniente das microalgas foi realizada uma análise de custos simplificada a partir de experimentos em escalas maiores (1000 litros). Esta análise levou em conta o preço e quantidade usada de floculantes, tempo de centrifuga e o uso ácido acético na preparação da solução de quitosana, conforme consta na Equação 3.

$$CT^* = C \times VF \times PF + PAC \times VAC + PC \times TC \times PE \quad \text{Eq. 3}$$

Onde CT^* era o custo total (R\$), C a concentração de floculante (mg/L), VF o volume de floculante (L), PF o preço do floculante (R\$/kg), PAC o preço do ácido acético (R\$/L), VAC o volume de ácido acético (L), PC a potência da centrífuga (kW), TC o tempo de operação da centrífuga (h) e PE o preço da energia (R\$/kWh).

Os preços utilizados na análise são dados das empresas fornecedoras:

- Tanfloc: TANAC;
- Quitosana: Polymar Ciência e Nutrição S/A;
- Ácido acético: VETEC;

- Tarifa de energia: Copel (para classe industrial).

4.11.1. Processo de floculação em escala ampliada

O tanque decantador utilizado nos experimentos em escalas maiores após avaliação das variáveis de processo está apresentado na Figura 7. Ele foi capaz de processar 1000 litros de suspensão de microalgas e possuía um agitador mecânico que na etapa de floculação foi mantido em funcionamento por 10 minutos em uma velocidade de aproximadamente 30 rpm.

FIGURA 7 – TANQUE DECANTADOR UTILIZADO EM EXPERIMENTOS EM ESCALAS MAIORES.



FONTE: Autora, 2015.

4.11.2. Etapa de redução da umidade do lodo resultante da floculação

Para redução da umidade do lodo formado na floculação da suspensão de microalgas foi utilizada a centrífuga M512 (Baldor Reliance Industrial Motor). A biomassa retirada da centrífuga passou, então, por uma secagem para posterior uso como matéria-prima para produção de biodiesel.

A Figura 8 mostra a centrífuga utilizada modelo 512.

FIGURA 8 – CENTRÍFUGA UTILIZADA NOS EXPERIMENTOS: MODELO 512.



FONTE: Autora, 2016.

4.12. METODOLOGIA ANALÍTICA

4.12.1. Eficiência de floculação

Os experimentos foram desenvolvidos com um equipamento de *Jar Test* (Milan Equipamentos Científicos) com béqueres de 2 litros. A solução de floculante foi adicionada ao meio contendo a cultura e iniciou-se a agitação por 10 minutos a 50 rpm após 10 segundos de agitação rápida a 200 rpm. Os flocos foram deixados em repouso por 15 minutos. Depois de sedimentados, uma alíquota do clarificado foi retirada através do bocal de saída do béquer, localizado a um terço de altura deste em relação à base, para que fosse medida a densidade ótica (DO). A DO da alíquota foi medida com um espectrofotômetro UV-1601 Shimadzu em diferentes comprimentos de onda (540 nm, 670 nm e 750 nm) para avaliar a eficiência de remoção, que foi calculada usando de duas maneiras: a partir da Equação 4 que leva em consideração apenas a DO e da Equação 5, que leva em consideração também o volume de lodo gerado após a floculação.

$$\eta_f(\%) = \left(1 - \frac{B^*}{A^*}\right) \times 100 \quad \text{Eq. 4}$$

$$\eta_f(\%) = \left(1 - \frac{B^*}{A^*}\right) \times \left(1 - \frac{V_f}{V_i}\right) \times 100 \quad \text{Eq. 5}$$

Onde η_f era a eficiência de floculação, A^* a DO inicial do meio contendo a cultura, B^* a DO da amostra e V_i e V_f os volumes inicial e final da suspensão de microalgas, respectivamente.

As incertezas calculadas relacionadas à eficiência de floculação são referentes às análises do clarificado realizadas em triplicata no espectrofotômetro UV-1601 Shimadzu.

4.12.1.1. Densidade ótica

Como os contaminantes bacterianos e o meio de cultivo podem interferir na absorção da luz levando a resultados errôneos para promover a quantificação da eficiência de floculação (Selesu, 2015), analisaram-se algumas amostras dos clarificados em três comprimentos de onda, como já citado no item 4.12.1. A Tabela 4 apresenta as cores absorvidas por cada comprimento de onda utilizado nas análises de densidade ótica para garantir que as eficiências de floculação não fossem calculadas com grandes desvios.

TABELA 4 – COR DA RADIAÇÃO ABSORVIDA PELOS COMPRIMENTOS DE ONDA ANALISADOS.

Comprimento de onda (nm)	Cor da radiação absorvida
540	Verde
670	Laranja
750	Vermelho

FONTE: Adaptado Cefet – RJ, 2016.

Assim, realizando estes procedimentos foi possível as notar diferenças nos resultados nos diferentes comprimentos de onda nos experimentos usando tanfloc, uma vez que quando utilizado em excesso o clarificado proveniente da floculação ficava com tons de laranja.

4.12.2. Determinação do peso seco

As concentrações de biomassa eram apresentadas como peso seco de microalga, que foi determinado pela filtração de um volume fixo de suspensão de microalga através de microfiltros de fibra de vidro com 1.6 μm de porosidade e 47 mm de diâmetro (Macherey-Nagel). Os microfiltros foram secos a 105°C por 24 horas antes e depois da filtração e posteriormente pesados. Finalmente, a biomassa seca foi calculada através da diferença das massas dos microfiltros. A concentração de biomassa foi expressa em número de g/L de uma média de três filtrações.

4.12.3. Contagem das células

A metodologia empregada para caracterização da cinética de crescimento foi proposta por Lourenço (2006). A contagem celular foi realizada com auxílio de câmara de Neubauer em um microscópio óptico da marca Bioval, utilizando magnificação de 400 X.

A concentração celular foi expressa em número de células/mL de uma média de três contagens. As contagens foram realizadas diariamente sempre no mesmo horário.

4.12.4. Carbono orgânico total (COT) e nitrogênio total (NT)

O carbono orgânico total (COT) e o nitrogênio orgânico total (NT) foram determinados utilizando-se um analisador de carbono total Shimadzu TOC-VCPH+ASI.

5. RESULTADOS

5.1. TESTES PRELIMINARES

5.1.1. Avaliação da concentração de quitosana em ácido acético

A Tabela 5 mostra os resultados obtidos de eficiência de floculação das microalgas ao empregar diferentes concentrações de quitosana solubilizada em diferentes concentrações de ácido acético. A eficiência de floculação foi calculada pela Equação 4.

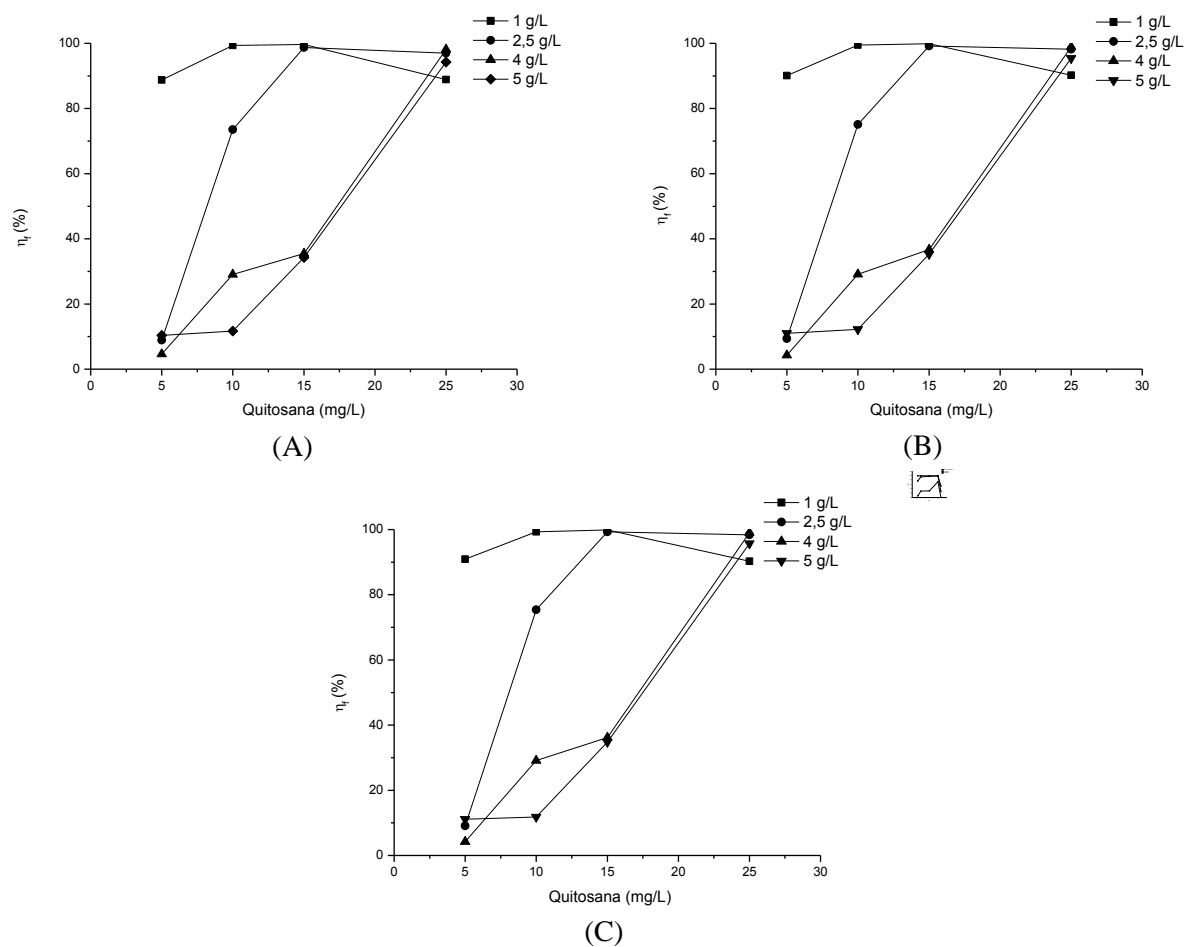
TABELA 5 - RESULTADOS OBTIDOS NA FLOCULAÇÃO DE MICROALGAS UTILIZANDO SOLUÇÃO DE QUITOSANA EM ÁCIDO ACÉTICO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES.

Exp.	Conc. de quitosana solubilizada na suspensão de microalgas (mg/L)	Conc. de quitosana solubilizada em ácido acético (g/L)	pH final	Eficiência de floculação (%)		
				DO 540 nm	DO 670 nm	DO 750 nm
1	5	1	6,2	88,8 ± 0,1	90,1 ± 0,5	90,9 ± 0,1
2	5	2,5	6,3	8,9 ± 1,1	9,4 ± 0,2	9,1 ± 0,2
3	5	4	6,5	4,7 ± 0,4	4,3 ± 0,4	4,2 ± 0,5
4	5	5	6,6	10,4 ± 1,5	11,0 ± 0,4	11,1 ± 0,7
5	10	1	6,1	99,4 ± 0,2	99,5 ± 0,1	99,3 ± 0,2
6	10	2,5	7,5	73,5 ± 1,2	75,1 ± 0,2	75,4 ± 0,2
7	10	4	9,1	29,1 ± 1,0	29,1 ± 0,1	29,1 ± 0,2
8	10	5	9,5	11,7 ± 1,5	12,2 ± 0,4	11,8 ± 0,4
9	15	1	5,3	99,7 ± 0,5	99,9 ± 0,1	99,9 ± 0,1
10	15	2,5	6,7	98,7 ± 0,4	99,2 ± 0,1	99,3 ± 0,2
11	15	4	8,5	35,5 ± 0,5	36,7 ± 0,1	36,2 ± 0,2
12	15	5	8,5	34,3 ± 0,3	35,3 ± 0,1	34,8 ± 0,1
13	25	1	4,7	88,9 ± 1,3	90,2 ± 0,2	90,3 ± 0,5
14	25	2,5	5,7	97,0 ± 0,2	98,2 ± 0,2	98,4 ± 0,3
15	25	4	6,9	98,1 ± 0,2	98,9 ± 0,3	99,0 ± 0,1
16	25	5	7,1	94,3 ± 0,2	95,4 ± 0,4	95,7 ± 0,3
17	Branco (sem quitosana)		7,1	-	-	-

DO: densidade ótica. FONTE: Autora.

Para melhor visualizar o comportamento dos resultados apresentados na Tabela 5 foi construída a Figura 9 para as faixas de DO avaliadas de 540, 670 e 750 nm.

FIGURA 9 - EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO VS CONCENTRAÇÃO DE QUITOSANA NO MEIO PARA DIVERSAS CONCENTRAÇÕES DE QUITOSANA EM ÁCIDO ACÉTICO EM 540 (A), 670 (B) E 750 NM (C).



η_f : Eficiência de floculação. FONTE: Autora, 2015.

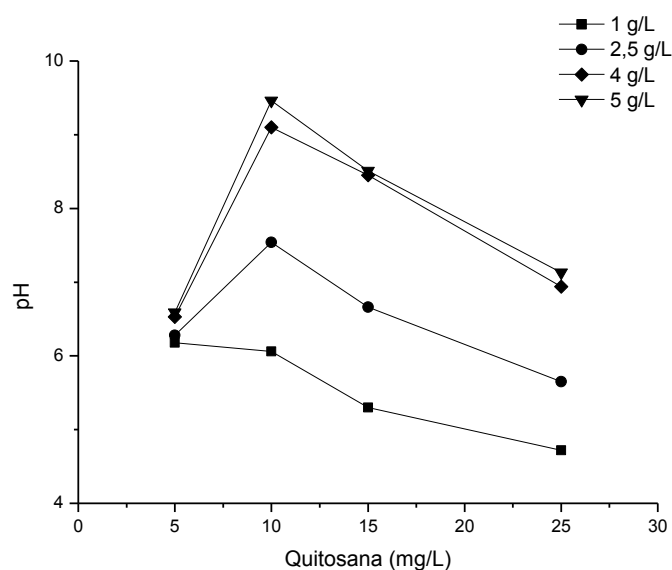
Ao avaliar a Figura 9 verificara-se que os melhores resultados de eficiência de floculação foram observados em toda faixa de concentração de quitosana solubilizada empregada na suspensão de microalgas, quando 1 grama deste flocculante foi solubilizado em um litro de solução de ácido acético 1%. As concentrações de quitosana solubilizada em ácido acético acima de 2,5 g/L apresentaram baixas eficiências de floculação, exceto na concentração de quitosana na suspensão de microalgas de 25 mg/L, onde todas as soluções de quitosana preparada em ácido acético apresentaram próximos, acima de 90% de remoção.

Vale salientar, que apesar do elevado valor do ácido acético, o ideal seria utilizar uma maior quantidade de quitosana solubilizada em ácido acético visando a diminuição da quantidade deste. Pois pensando em um processo em maior escala seria empregado menos ácido. Mas os resultados mostraram que a menor concentração de quitosana em ácido acético promoveu uma diminuição do pH, tornando a suspensão de microalgas mais ácida, o que favoreceu os maiores valores de remoção da floculação como observado nos

experimentos 1, 5, 9 e 13. Portanto, optou-se por trabalhar com a menor concentração de quitosana solubilizada em ácido acético (1 g/L) e com a concentração de quitosana na suspensão de microalgas de 10 mg/L, já que foi a menor concentração onde foi obtido eficiência de floculação próxima a 100%.

A Figura 10 apresenta a relação entre a concentração de quitosana solubilizada em ácido acético empregada na suspensão de microalgas e o pH final após a floculação.

FIGURA 10 - RELAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE QUITOSANA E O PH MEDIDO NO MEIO PARA SOLUÇÕES COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES.



FONTE: Autora, 2015.

5.1.2. Influência do pH inicial da microalga na floculação

Ainda que no item 5.1.1 tenha-se obtido melhores eficiências de floculação na concentração de 1 g/L foram realizados experimentos fazendo uso de quitosana solubilizada em solução de ácido acético na concentração de 2 g/L a fim de verificar a influência do pH inicial da suspensão de microalgas na floculação. Vale ressaltar que o objetivo é tentar buscar a redução da quantidade de floculantes em solução de ácido acético necessária em cada teste de floculação e não reduzir as altas eficiências obtidas na concentração de 1 g/L.

A Tabela 6 apresenta os resultados de eficiência de floculação em três condições: sem quitosana e com concentrações de quitosana de 15 mg/L e 25 mg/L. Os pHs iniciais analisados foram 5,3; 6; 8; 10; 10,7 e a concentração inicial de biomassa era de 0,396 g/L. As absorbâncias foram analisadas novamente em 540, 670 e 750 nm e a eficiência de floculação foi calculada utilizando a Equação 4.

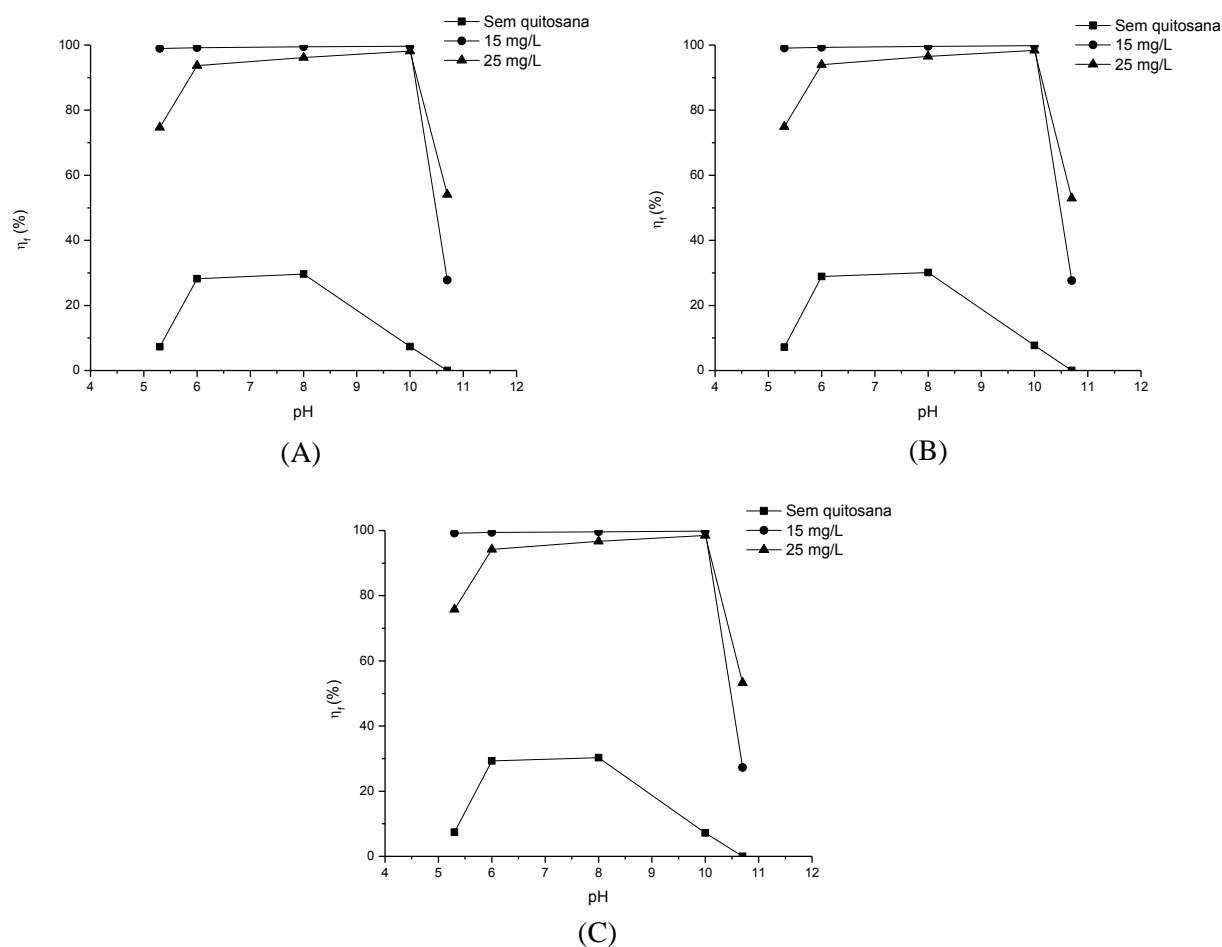
TABELA 6 - INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE QUITOSANA NA EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO E NO PH DO MEIO FAZENDO USO DE QUITOSANA SOLUBILIZADA EM SOLUÇÃO DE ÁCIDO ACÉTICO NA CONCENTRAÇÃO DE 2 G/L.

Sem quitosana					
Exp.	pH inicial	pH final	Eficiência de floculação (%)		
			540 nm	670 nm	750 nm
1	5,3	5,3	7,3 ± 2,1	7,19 ± 1,0	7,40 ± 2,0
2	6	6,3	28,2 ± 8,9	28,9 ± 9,4	29,3 ± 10,4
3	8	7,8	29,7 ± 0,3	30,1 ± 0,5	30,3 ± 1,3
4	10	9,8	7,4 ± 4,4	7,7 ± 2,7	7,2 ± 0,6
5	10,7	10,6	0	0	0
Quitosana 15 mg/L					
Exp.	pH inicial	pH final	Eficiência de floculação (%)		
			540 nm	670 nm	750 nm
6	5,3	4,9	98,9 ± 0,1	99,1 ± 0,1	99,2 ± 0,2
7	6	4,9	99,2 ± 0,2	99,3 ± 0,1	99,4 ± 0,1
8	8	5,6	99,5 ± 0,1	99,6 ± 0,1	99,6 ± 0,1
9	10	7,0	99,7 ± 0,3	99,8 ± 0,2	99,8 ± 0,2
10	10,7	10,3	27,8 ± 1,0	27,6 ± 0,7	27,3 ± 0,7
Quitosana 25 mg/L					
Exp.	pH inicial	pH final	Eficiência de floculação (%)		
			540 nm	670 nm	750 nm
11	5,3	4,6	74,7 ± 0,1	74,9 ± 0,7	75,84 ± 0,1
12	6	4,8	93,7 ± 0,2	94,0 ± 0,3	94,3 ± 0,1
13	8	5,1	96,2 ± 0,1	96,5 ± 0,2	96,7 ± 0,1
14	10	5,7	98,2 ± 0,1	98,4 ± 0,1	98,5 ± 0,1
15	10,7	9,2	54,1 ± 1,8	52,9 ± 1,1	53,3 ± 1,9

FONTE: Autora, 2015.

Com os dados da Tabela 6, plotou-se o gráfico da eficiência de floculação em função do pH (Figura 11) para as três condições citadas anteriormente: sem quitosana, e nas concentrações de 15 mg/L e 25 mg/L para as DO de 540, 670 e 750 nm.

FIGURA 11 - EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO EM FUNÇÃO DO PH PARA TRÊS CONDIÇÕES: SEM QUITOSANA E NAS CONCENTRAÇÕES DE 15 MG/L E 25 MG/L EM 540 (A), 670 (B) E 750 NM (C).



η_f : Eficiência de floculação. FONTE: Autora, 2015.

Por meio da Figura 11 pode-se observar que sem a adição de quitosana a eficiência de remoção foi bem baixa, alcançado valores máximos de 30%. Os melhores resultados obtidos foram para a concentração de quitosana de 15 mg/L, ou seja, para esta concentração obteve-se as maiores eficiências de remoção para quase todas as faixas de pH estudadas, exceto para o experimento 10.

Ainda que se tenha obtido altas eficiências de floculação em alguns casos usando a solução de quitosana na concentração de 2 g/L conforme mostram a Tabela 6 e Figura 11, a condição com pH da cultura fresca não apresentou altas eficiências, então optou-se fixar a concentração de 1 g/L para o restante dos experimentos para evitar a necessidade de redução do pH do meio antes da floculação.

5.1.3. Recuperação de microalga usando quitosana na concentração de 1 g/L e variando a concentração de biomassa

Para verificar a eficiência de floculação sem redução do pH inicial da suspensão de microalgas (10 a 10,7), dois parâmetros foram analisados no processo de floculação

envolvendo a quitosana: a concentração de flocculante e a concentração inicial de biomassa. As respostas observadas para a eficiência de floculação em função dessas variáveis estão apresentadas na Tabela 7. Vale salientar que a eficiência de remoção foi calculada usando a Equação 5 que leva em conta o volume de lodo em 540 nm.

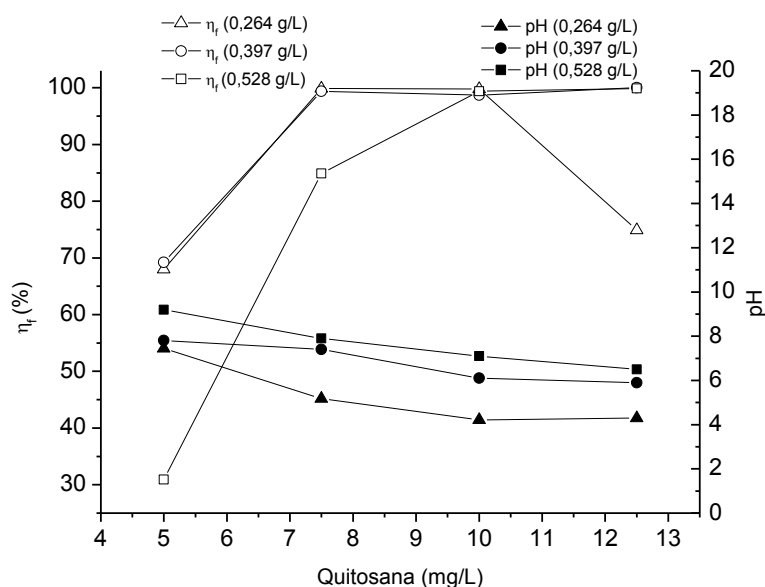
TABELA 7 - EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO E PH FINAL DO MEIO VARIANDO A CONCENTRAÇÃO DE QUITOSANA E A CONCENTRAÇÃO CELULAR.

Conc. de quitosana solubilizada na suspensão de microalgas (mg/L)	Concentração inicial de biomassa (g/L)	Eficiência de floculação (%)	pH final
5	0,264	68,0 ± 0,2	7,5
7,5	0,264	99,9 ± 0,1	5,2
10	0,264	99,7 ± 0,1	4,2
12,5	0,264	75,0 ± 0,2	4,3
5	0,397	69,2 ± 0,4	7,8
7,5	0,397	99,4 ± 0,1	7,4
10	0,397	98,7 ± 0,1	6,1
12,5	0,397	99,9 ± 0,1	5,9
5	0,528	30,9 ± 0,4	9,2
7,5	0,528	84,9 ± 0,3	7,9
10	0,528	99,4 ± 0,1	7,1
12,5	0,528	99,9 ± 0,1	6,5

FONTE: Autora, 2015.

Com os dados da Tabela 7 plotou-se a eficiência de floculação e pH do meio após adição de flocculante em relação à concentração de quitosana (Figura 12). Ao analisar esta figura observou-se que para a concentração inicial de biomassa de 0,528 g/L foi necessária 10 mg/L de quitosana para uma alta eficiência de remoção e que em baixas concentrações de biomassa (0,256 a 0,397 g/L) a concentração de quitosana necessária pra floculação foi de 7,5 mg/L. Outro ponto analisado foi o pH do meio após a adição de flocculante, que apresentou redução para as maiores concentrações de quitosana solubilizada na suspensão de microalgas, uma vez que para aumentar a concentração de quitosana aumenta-se a quantidade de solução adicionada e, conseqüentemente, aumenta-se a quantidade de ácido acético, reduzindo o pH.

FIGURA 12 - EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO E PH DO MEIO APÓS ADIÇÃO DE FLOCULANTE EM RELAÇÃO À CONCENTRAÇÃO DE QUITOSANA.



η_f (***) g/L): Eficiência de floculação (concentração de biomassa), pH (***) g/L): pH (concentração de biomassa). FONTE: Autora, 2015.

Analizando os resultados obtidos, optou-se por fixar a dosagem ótima de quitosana em 10 mg/L. Pois, assim como Ahmad *et al.* (2011) que obtiveram uma remoção de $99,3 \pm 0,7\%$ através da floculação de microalgas utilizando quitosana, os resultados mostraram altas eficiências de floculação, próximo a 100%, em todas as condições estudadas, sendo desnecessário o gasto de maior quantidade de floculante para se atingir maior remoção de biomassa. Além disso, observou-se a redução da eficiência de floculação nos experimentos com menor concentração de biomassa (0,256 g/L) quando usou-se uma dosagem de quitosana de 12,5 mg/L, provavelmente uma dosagem excessiva para a concentração de biomassa inicial trabalhada. Segundo Ahmad *et al.* (2011), esta redução na remoção de biomassa ocorre devido ao excesso de carga positiva proveniente das moléculas de quitosana que faz com as células de microalgas se estabilizem novamente, ocorrendo a quebra dos flocos formados e consequentemente impossibilitando a decantação destes.

5.2. PLANEJAMENTO FATORIAL PARA A ESCOLHA DAS VARIÁVEIS SIGNIFICANTES

O presente trabalho avaliou a influência das seguintes variáveis: pH, velocidade de mistura (VM), tempo de mistura (TM), concentração de tanfloc (CT) e concentração de quitosana (CQ). Para tal análise um planejamento fatorial dois níveis incompleto (2^{5-1}) foi realizado em triplicata para determinar os efeitos de cada variável e de suas interações.

As eficiências de floculação foram calculadas utilizando a Equação 4 e estão apresentadas na Tabela 8 para os três comprimentos de onda: 540, 670 e 750 nm. O pH inicial da suspensão de microalgas foi de 10.

TABELA 8 - EFICIÊNCIAS DE FLOCULAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DOS EFEITOS DE CADA VARIÁVEL E DE SUAS INTERAÇÕES.

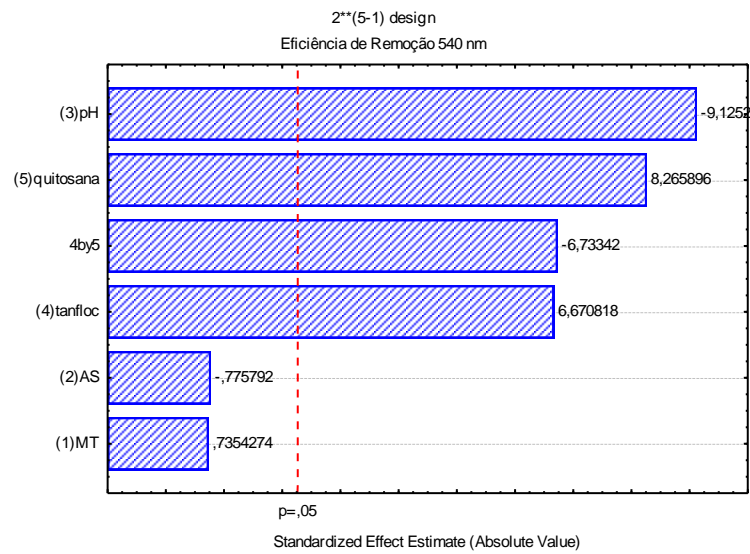
Exp.	Eficiência de floculação (%)		
	540 nm	670 nm	750 nm
1	99,4 ± 0,1	99,5 ± 0,4	99,5 ± 0,3
2	28,2 ± 6,6	29,3 ± 6,4	29,0 ± 5,8
3	15,0 ± 1,6	14,6 ± 1,7	14,0 ± 1,5
4	98,9 ± 0,1	99,0 ± 0,2	99,1 ± 0,1
5	0	0	0
6	64,2 ± 4,6	64,0 ± 4,6	63,2 ± 3,8
7	47,8 ± 1,5	46,9 ± 1,5	44,7 ± 0,9
8	0	0	0
9	97,2 ± 2,9	99,5 ± 0,1	99,5 ± 0,1
10	97,6 ± 0,1	97,8 ± 0,2	97,8 ± 0,2
11	99,6 ± 0,1	99,7 ± 0,1	99,7 ± 0,1
12	98,6 ± 0,2	98,7 ± 0,2	98,8 ± 0,2
13	56,7 ± 0,7	58,5 ± 0,4	57,7 ± 0,9
14	42,7 ± 6,8	44,9 ± 6,5	44,0 ± 6,6
15	43,2 ± 17,7	45,3 ± 16,4	45,4 ± 15,5
16	55,1 ± 2,6	57,6 ± 2,2	58,0 ± 2,1

FONTE: Autora, 2015.

Observa-se na Tabela 8, que os resultados de eficiência de floculação variaram entre 14,0% (ensaio 3 - 750 nm) e 99,7% (ensaio 11 - 670 e 750 nm).

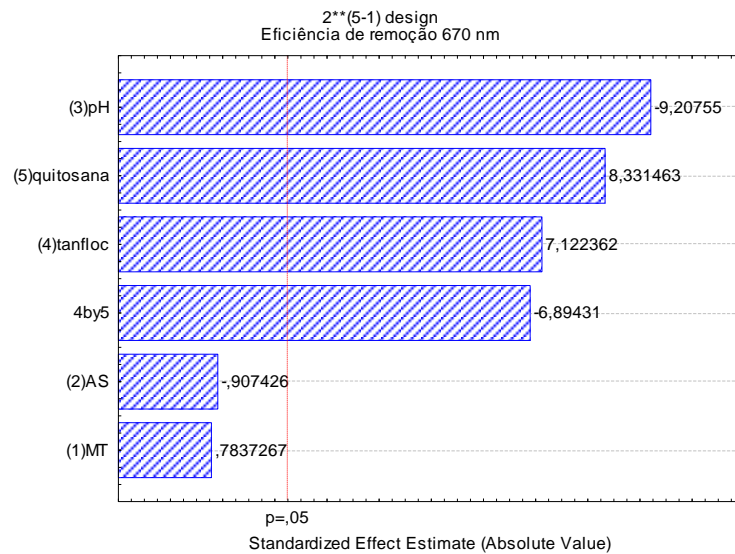
Após análise no software *Statistica 7*, através dos gráficos de Pareto (Figuras 13, 14 e 15), verificou-se que as variáveis independentes que influenciaram na eficiência de remoção foram pH, concentração de tanfloc, e concentração de quitosana sendo que o pH apresentou o maior efeito por apresentar maior valor em módulo.

FIGURA 13 - GRÁFICO DE PARETO PARA A EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO EM 540 NM CONSIDERANDO A INFLUÊNCIA DO PH, TEMPO E VELOCIDADE DE AGITAÇÃO, CONCENTRAÇÃO DE QUITOSANA E TANFLOC E A INTERAÇÃO DOS ÚLTIMOS.



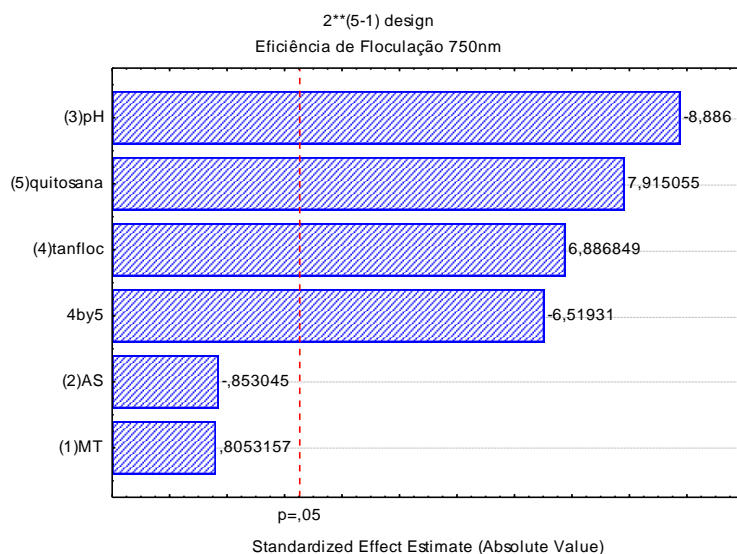
FONTE: Autora, 2015.

FIGURA 14 - GRÁFICO DE PARETO PARA A EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO EM 670 NM CONSIDERANDO A INFLUÊNCIA DO PH, TEMPO E VELOCIDADE DE AGITAÇÃO, CONCENTRAÇÃO DE QUITOSANA E TANFLOC E A INTERAÇÃO DOS ÚLTIMOS.



FONTE: Autora, 2015.

FIGURA 15 - GRÁFICO DE PARETO PARA A EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO EM 750 NM CONSIDERANDO A INFLUÊNCIA DO PH, TEMPO E VELOCIDADE DE AGITAÇÃO, CONCENTRAÇÃO DE QUITOSANA E TANFLOC E A INTERAÇÃO DOS ÚLTIMOS.



FONTE: Autora, 2015.

Analisando as Figuras 13, 14 e 15 foram observadas maiores eficiências de floculação para maiores concentrações de tanfloc e quitosana e na condição de pH reduzido, uma vez que nos gráficos de Pareto os coeficientes relacionados ao pH são negativos e os relacionados ao tanfloc e à quitosana são positivos, ou seja, quanto menor o pH do meio, maiores serão as eficiências de floculação obtidas e quanto maior a concentração de floclantes introduzida no meio, maiores as eficiências de floculação alcançadas. Além disso, o módulo dos coeficientes expressa o grau de significância deles no processo. Como se estabeleceu um nível de significância de 95% e as variáveis VM e TM não atingiram tal nível, estas foram fixadas em 50 rpm e 10 minutos, respectivamente, para os demais experimentos realizados. Outro resultado obtido nas Figuras 13, 14 e 15 está relacionado com a combinação do tanfloc e da quitosana, que pelos gráficos apresentam um alto grau de significância negativo, o que sugere que com o aumento da concentração dos floclantes combinados a eficiência de floculação é reduzida. Isto não é observado na prática de acordo com a Tabela 8, já que comparando os experimentos 10 e 11, onde foram inseridas as máximas quantidades de floclantes estudadas a redução da resposta só é observada nos experimentos com pHs iniciais mais elevados.

5.3. MAXIMIZAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO ATRAVÉS DA METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA (MSR) PARA TANFLOC: PLANEJAMENTO COMPOSTO CENTRAL

5.3.1. Análise estatística da eficiência de floculação para tanfloc

Através dos experimentos realizados foi possível eleger três parâmetros importantes envolvidos no processo de floculação: pH concentração de floculante e concentração inicial de células de microalgas, os quais foram otimizados. A Tabela 9 apresenta as eficiências de remoção para a DO de 540 nm obtidas para um planejamento composto central com 3 variáveis e 17 experimentos. A eficiência de floculação foi calculada utilizando a Equação 5 que leva em conta o volume do lodo formado pela biomassa decantada.

TABELA 9 - EFICIÊNCIAS DE FLOCULAÇÃO OBTIDAS PARA O PLANEJAMENTO COMPOSTO CENTRAL COM 3 VARIÁVEIS E 17 EXPERIMENTOS.

Exp.	pH	Concentração de tanfloc (mg/L)	Concentração de biomassa (g/L)	Eficiência de floculação (%)
1	5,5 (-1,00)	50,0 (-1,00)	0,264 (-1,00)	87,0 ± 0,2
2	5,5 (-1,00)	50,0 (-1,00)	0,528 (1,00)	93,0 ± 0,3
3	5,5 (-1,00)	200,0 (1,00)	0,264 (-1,00)	30,2 ± 0,5
4	5,5 (-1,00)	200,0 (1,00)	0,528 (1,00)	80,0 ± 0,4
5	10,5 (1,00)	50,0 (-1,00)	0,264 (-1,00)	11,5 ± 0,2
6	10,5 (1,00)	50,0 (-1,00)	0,528 (1,00)	0
7	10,5 (1,00)	200,0 (1,00)	0,264 (-1,00)	73,0 ± 0,1
8	10,5 (1,00)	200,0 (1,00)	0,528 (1,00)	40,0 ± 0,6
9	4,6 (-1,35)	125 (0)	0,396 (0)	80,0 ± 0,1
10	11,4 (1,35)	125 (0)	0,396 (0)	7,0 ± 0,5
11	8,0 (0)	23,5 (-1,35)	0,396 (0)	35,0 ± 0,3
12	8,0 (0)	226,5 (1,35)	0,396 (0)	75,0 ± 0,3
13	8,0 (0)	125 (0)	0,211 (-1,35)	85,4 ± 0,2
14	8,0 (0)	125 (0)	0,581 (1,35)	90,7 ± 0,1
15	8,0 (0)	125 (0)	0,396 (0)	86,4 ± 0,2
16	8,0 (0)	125 (0)	0,396 (0)	86,4 ± 0,2
17	8,0 (0)	125 (0)	0,396 (0)	86,4 ± 0,2

FONTE: Autora, 2015.

Analisando a Tabela 9 pode-se verificar que a eficiência de floculação variou de 0 (Experimento 6) a 93,0 ± 0,3% (Experimento 2). O experimento 2 (pH de 5,5,

concentração de tanfloc de 50 mg/L e concentração de biomassa de 0,528 g/L) apresentou um máximo de eficiência de floculação de $93,0 \pm 0,3\%$. A condição com pH 8, concentração de biomassa de 0,396 g/L e concentração de tanfloc de 125 mg/L, referente aos experimentos 15, 16 e 17, também apresentou considerável eficiência de floculação ($86,4 \pm 0,2\%$). Nos experimentos do PCC usando tanfloc foi possível notar através dos resultados menores eficiências de floculação comparadas aos experimentos envolvendo quitosana. Isto se deve ao modo como foram calculadas as respostas, que no PCC levou em conta o volume de lodo formado pela biomassa decantada junto que nas floculações com tanfloc são bem mais elevados que nas floculações com quitosana (8 a 10 vezes maior).

Os resultados obtidos no presente trabalho foram próximos aos obtidos por Gutiérrez *et al.* (2015) que trabalharam com floculação de microalgas e obtiveram 93,3% de remoção, ainda que as condições em que os teste foram realizados sejam diferentes, o que confirma a eficiência do tanfloc no processamento de biomassa a partir de microalgas.

Os resultados experimentais obtidos foram analisados usando o software *Statistica 7* para as seguintes análises: variância (ANOVA), coeficiente de regressão e equação de regressão. O nível de significância, P-valor, foi usado para selecionar a maior ordem polinomial onde os termos adicionais são significantes. A Tabela 10 apresenta os coeficientes do planejamento composto central (PCC) e os níveis de significância das variáveis estudadas.

TABELA 10 - COEFICIENTES DO PLANEJAMENTO COMPOSTO CENTRAL E NÍVEIS DE SIGNIFICÂNCIA DAS VARIÁVEIS ESTUDADAS.

	Coeficiente do PCC	P-valor
Modelo	86,8	0,000000
A	-22,7	0,000024
B	7,4	0,037703
AB	21,4	0,000183
AC	-12,5	0,007115
A ²	-21,5	0,000348
B ²	-15,2	0,003774

FONTE: Autora, 2015.

A função resposta da eficiência de remoção é dada pela Equação 6.

$$\eta_f(\%) = 86,8 - 22,7x_A - 21,5x_A^2 + 7,4x_B - 15,2x_B^2 + 21,4x_Ax_B - 12,5x_Ax_C \quad \text{Eq. 6}$$

O experimento teve como variável dependente a eficiência de floculação e variáveis independentes o pH (A), concentração de tanfloc (B) e concentração de biomassa (C). A,B,C, são referidos como principais efeitos dos termos lineares enquanto AB, AC, BC são os termos de interação entre as variáveis independentes e A^2 , B^2 , C^2 são os termos quadráticos envolvidos no processo.

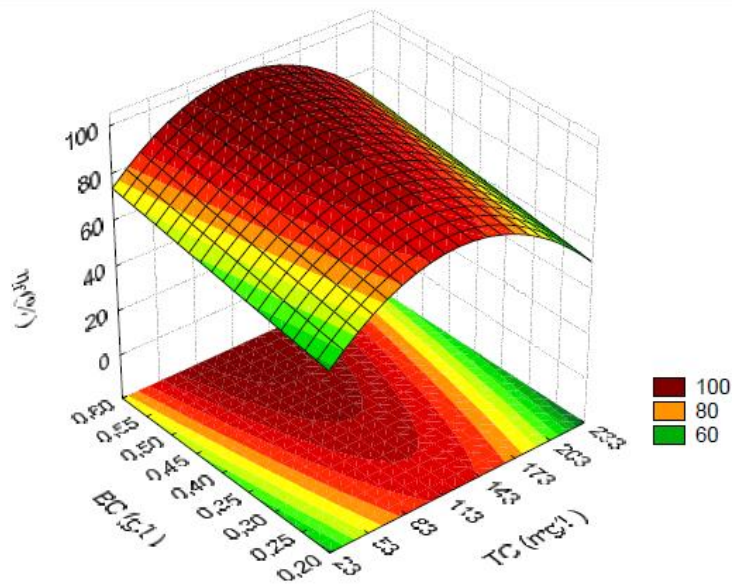
A significância estatística da equação do modelo foi analisada pelo teste F para análise de variância (ANOVA) para a regressão do modelo. Os valores de P-valor $< 0,05$ implicam que o modelo foi estatisticamente válido. A determinação do maior coeficiente (R^2) obtido foi de 0,9362. Isto mostra que 93,62% das variações na resposta (eficiência de floculação) podem ser explicadas pelo modelo. A regressão do termo linear A (pH) foi o fator mais significativo da eficiência de floculação (P-valor = 0,000024). O termo B (concentração de tanfloc) também se mostrou significativo, contudo o termo C (concentração de biomassa) não se mostrou significativo, uma vez que resultou em P-valor $> 0,05$, por isso o termo foi excluído do modelo. A interação entre pH (A) e a concentração de tanfloc (B) com P-valor de 0,000183 e a interação entre pH (A) e concentração de biomassa (C) com P-valor de 0,007115 influenciaram significativamente na eficiência de floculação. Entretanto, a interação entre concentração de tanfloc (B) e concentração de biomassa (C) não foi significativa (P-valor $> 0,05$) e também foi excluída. Os termos quadráticos A^2 com P-valor de 0,000348 e B^2 com P-valor de 0,003774 foram significantes.

Assim, a análise estatística da eficiência de floculação para tanfloc apresentou as variáveis significativas e que, portanto, devem estar presentes na Equação 6. A variável descartada (termo linear referente à concentração de biomassa) apresentou P-valor $> 0,05$, ou seja, sua variação não seria capaz de variar significativamente a resposta (eficiência de floculação).

5.3.2. Plotagem da superfície de resposta para a eficiência de remoção para o tanfloc

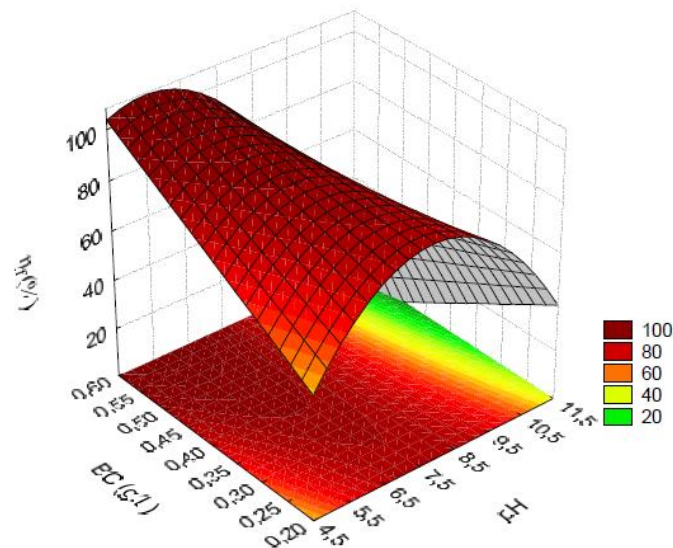
As superfícies de resposta tridimensionais e as curvas de contorno das respostas foram calculadas quando uma variável foi mantida constante e as outras duas variáveis foram variadas dentro da sua faixa experimental. As Figuras 16, 17 e 18 apresentam tais superfícies e curvas em pH 7, concentração de tanfloc de 125 mg/L e concentração de biomassa de 0,528 g/L, respectivamente.

FIGURA 16 – SUPERFÍCIE DE RESPOSTA E CURVA DE CONTORNO PARA A EFICIÊNCIA DE REMOÇÃO EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE TANFLOC E DA CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA EM PH 7.



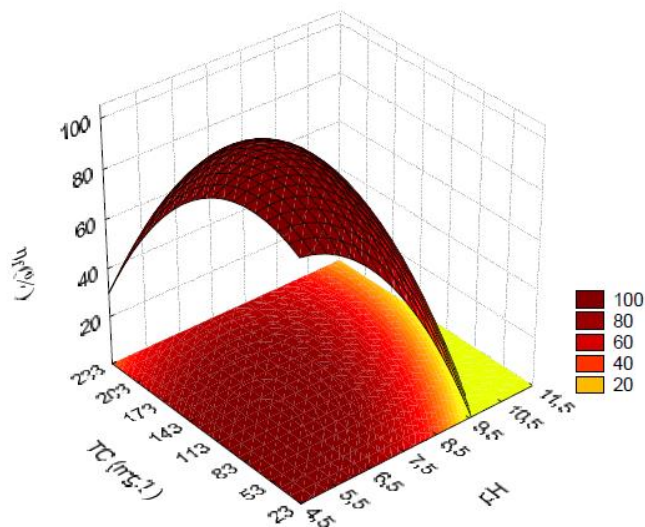
FONTE: Autora, 2015.

FIGURA 17 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA E CURVA DE CONTORNO PARA A EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA E DO PH EM COM CONCENTRAÇÃO DE TANFLOC FIXA EM 125 MG/L.



FONTE: Autora, 2015.

FIGURA 18 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA E CURVA DE CONTORNO PARA A EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE TANFLOC E DO PH EM COM CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA FIXA EM 0,528 G/L.



FONTE: Autora, 2015.

Os gráficos das Figuras 16, 17 e 18 foram plotados a fim de verificar a interação entre as variáveis independentes e determinar o ponto ótimo de cada variável para a resposta desejada. Devido à eficácia do tanfloc depender fortemente do pH do meio, o ajuste deste é necessário para obter um máximo de eficiência de floculação.

A Figura 16 mostra o efeito interativo entre a concentração de tanfloc e concentração de biomassa em pH 7. Observa-se que para altas concentrações de biomassa a concentração ótima de tanfloc está na faixa de 80 a 150 mg/L.

A Figura 17 mostra o efeito interativo entre o pH e a concentração de biomassa. De acordo com esta figura, na concentração de tanfloc de 125 mg/L, o pH ótimo para a máxima eficiência de floculação foi na faixa de 4,5 a 8 para altas concentrações de biomassa.

A Figura 18 mostra o efeito interativo entre o pH e a concentração de tanfloc na concentração de biomassa de 0,528 g/L. Pode-se observar que para pH abaixo de 7,5 é necessário concentrações de tanfloc inferiores a 150 mg/L para alta eficiência de floculação.

Segundo Gutiérrez *et al.* (2015), que também estudou a floculação de microalgas usando tanfloc, a dosagem ótima de floculante pode ser baseada na menor concentração deste que resulte em eficiências de floculação superiores a 90%. Dessa maneira, os autores fixaram a dosagem ótima de floculante em 50 mg/L para obtenção de 90,2% de biomassa recuperada em pH 7,9.

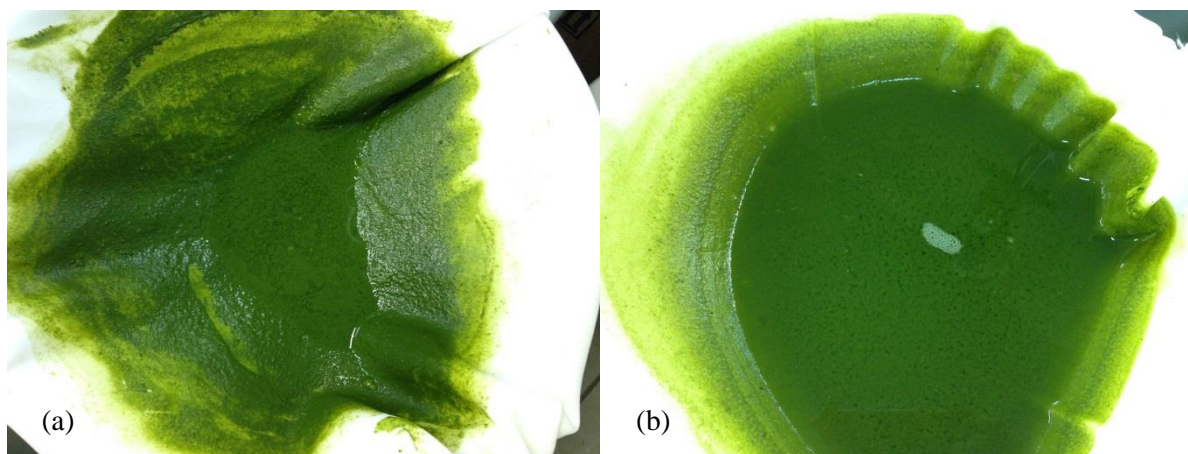
Levando em conta os estudos realizados por Gutiérrez *et al.* (2015), optou-se pela dosagem ótima de tanfloc de 125 mg/L em pH 8 nas maiores concentrações de biomassa analisadas. Tal escolha se deu baseada na eficiência de floculação superior a 90% obtida no experimento ($90,7 \pm 0,1\%$) e na concentração de biomassa trabalhada, já que nos experimentos com reuso de água as etapas de floculação ocorrem em suspensões com concentrações de biomassa iguais ou superiores a 0,5 g/L, que é a concentração média de biomassa atingida nos fotobiorreatores do NPDEAS após 15 dias de cultivo. Portanto, buscou-se otimizar as variáveis o mais próximo possível das condições de processo.

5.4. REUSO DO CLARIFICADO APÓS A FLOCULAÇÃO

Assumindo que a microalga consome a maioria dos nutrientes do meio de crescimento, apenas o dejetos suíno na concentração de 2,5% (v/v) foi adicionado ao reciclo sem nenhum ajuste de pH ou tratamento do clarificado. O primeiro inóculo utilizado no experimento de reuso tinha pH aproximadamente 10, os demais inóculos foram utilizados sem qualquer ajuste de pH, assim como os clarificados.

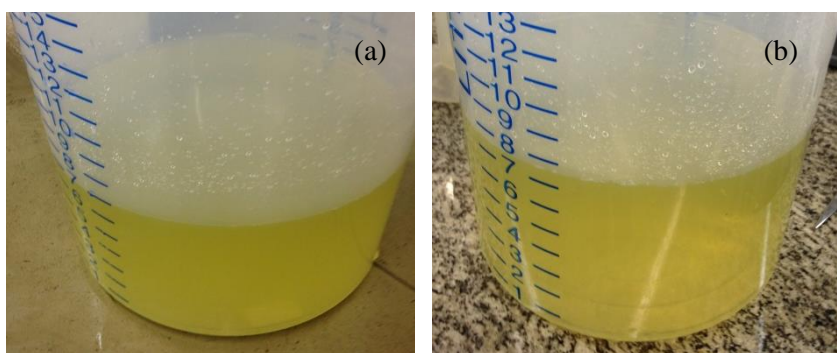
As Figuras 19 e 20 mostram a biomassa e o clarificado obtidos após floculação, respectivamente.

FIGURA 19 - FILTRAÇÃO DA BIOMASSA OBTIDA ATRAVÉS DA FLOCULAÇÃO DA QUITOSANA (A) E DO TANFLOC (B).



FONTE: Autora, 2015.

FIGURA 20 - CLARIFICADO OBTIDO ATRAVÉS DA FLOCULAÇÃO DO TANFLOC (A) E DA QUITOSANA (B).

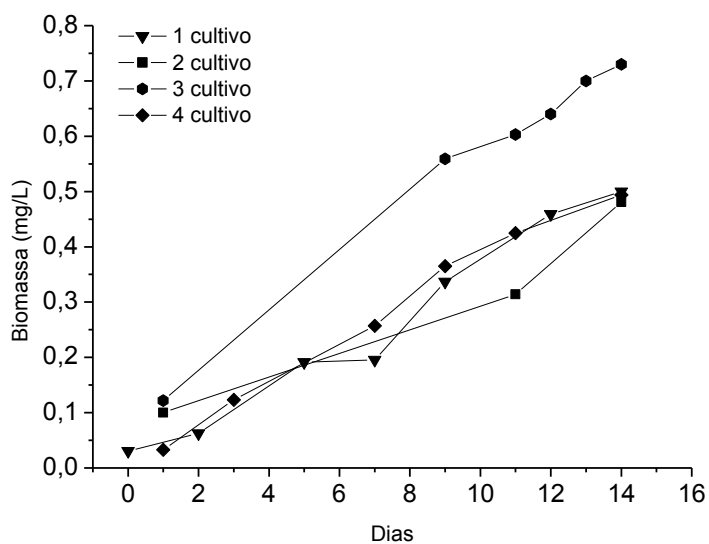


FONTE: Autora, 2015.

Ao final de cada reuso foi analisado tanto o COT (carbono orgânico total) quanto o TN (nitrogênio total) do clarificado.

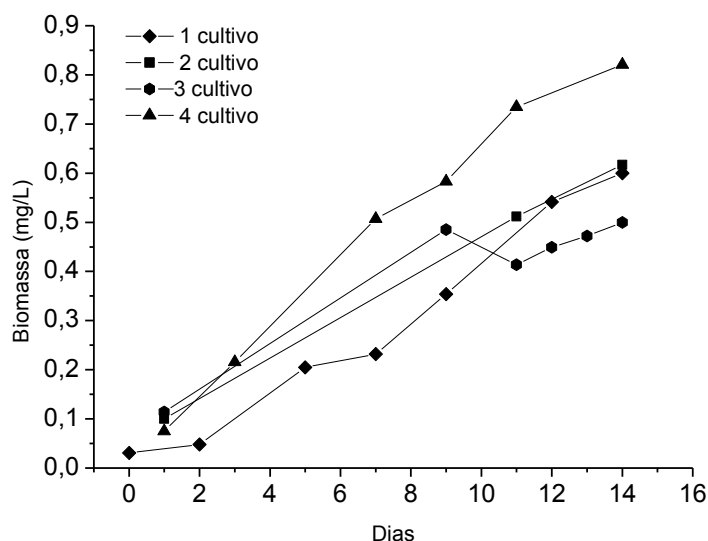
As curvas de crescimento da *Scenedesmus* sp. cultivada em cada meio reciclado após utilização do tanfloc e da quitosana estão apresentadas nas Figuras 21 e 22, respectivamente.

FIGURA 21 - CRESCIMENTO DA *SCENEDESMUS* SP. EM MEIO RECICLADO PELA FLOCULAÇÃO USANDO TANFLOC.



FONTE: Autora, 2015.

FIGURA 22 - CRESCIMENTO DA *SCENEDESMUS SP.* EM MEIO RECICLADO PELA FLOCULAÇÃO USANDO QUITOSANA.



FONTE: Autora, 2015.

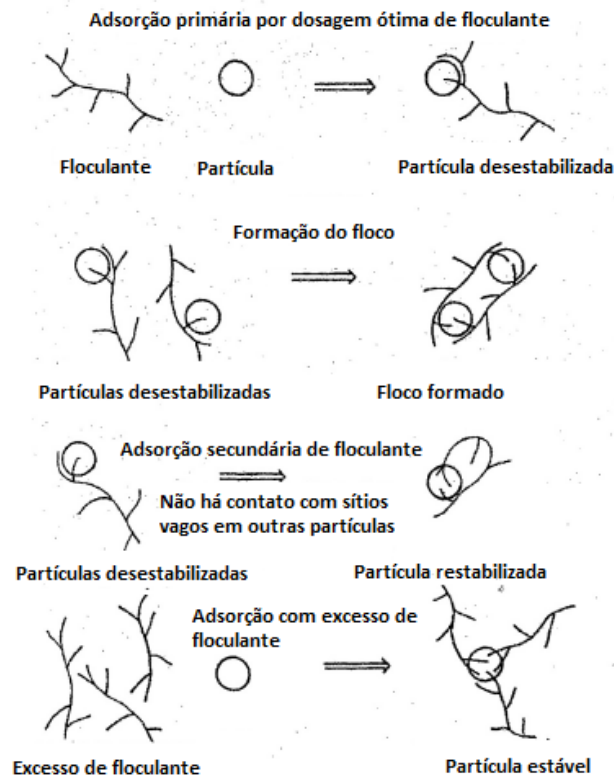
Os meios reciclados provenientes da floculação com tanfloc e quitosana não apenas suportaram o crescimento da *Scenedesmus sp.*, mas também aumentaram a produtividade da biomassa comparada ao primeiro cultivo. Ambos os meios resultantes da floculação com tanfloc e quitosana continuaram a mostrar efeitos positivos no crescimento da microalga mesmo após três ciclos de reuso.

Assim, pode-se constatar que o meio recuperado da floculação pode ser reciclado para os próximos cultivos. Porém, o problema ao fazer o reuso é que resíduos dos floclantes como sais de ferro e alumínio contaminam o meio, o que eventualmente pode ocasionar problemas ambientais: maior demanda de água e inibição do crescimento da microalga em meio recuperado, como ocorreu nos experimentos realizados por Farroq *et al.* (2015). Em seu estudo os cultivos utilizando o clarificado proveniente da floculação de microalgas com alumínio não passaram do primeiro reuso e os cultivos usando FeCl_3 , mesmo com altas taxas de crescimento, tinham o inconveniente da remoção do floclante para posterior uso da biomassa. Entretanto, no processo de floculação realizado com floclantes naturais não há contaminação do meio, o que faz com que o meio de crescimento após a floculação possa ser reciclado sem a necessidade do tratamento do clarificado e com a adição de dejetos suíno. O que é um diferencial extremamente positivo deste trabalho, já que se remove etapas (tratamento do clarificado e remoção do floclante da biomassa recuperada) que em seus experimentos Castrillo *et al.* (2013) e Delrue *et al.* (2015), que estudaram a floculação de microalgas com diversos floclantes,

não conseguiram retirar do processo. Castrillo *et al.* (2013) filtravam o clarificado com filtros de polycarbonato e esterilizavam os meios de cultivo em autoclave enquanto que Delrue *et al.* (2015) filtravam o sobrenadante em membranas de polietersulfona (PES) de 0,2 μm . Com isso, comparando os resultados do presente trabalho com os da literatura, a reciclagem do clarificado sem qualquer tratamento e utilizando como meio de cultivo efluente de dejetos suíno possibilita a minimização dos custos com nutrientes e a demanda de água necessária para novos cultivos.

Ainda que, o resultado do reuso do clarificado tenha sido positivo, nas duas últimas floculações com quitosana não foi possível obter altas taxas de recuperação de biomassa, o que pode ter ocorrido devido a parte do floculante que não decantou e se manteve no clarificado, fazendo com que aumentasse a concentração de quitosana na suspensão de microalgas a cada cultivo e consequentemente houvesse novamente a estabilização da suspensão e quebra ou não formação dos flocos (Ahmad *et al.*, 2011), como ilustrado na Figura 23. Tal fenômeno deve ser estudado mais a fundo para que se possa colocar em prática a reutilização do clarificado em escalas maiores.

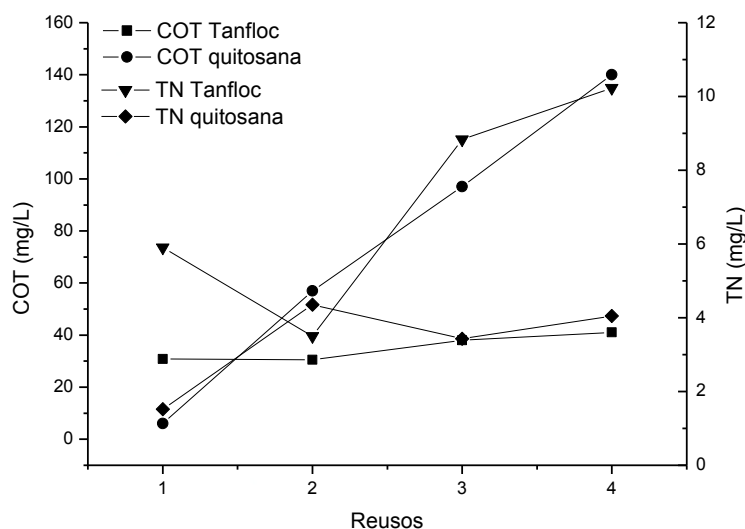
FIGURA 23 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA RESTABILIZAÇÃO DA SUSPENSÃO DEVIDO AO EXCESSO DE FLOCULANTE.



FONTE: Adaptado - Fagundes, 2010.

A Figura 24 apresenta os valores de COT e NT dos clarificados do final de cada cultivo.

FIGURA 24 - ANÁLISES COT E TN DO CLARIFICADO DE CADA REUSO PARA O TANFLOC E QUITOSANA.



FONTE: Autora, 2015.

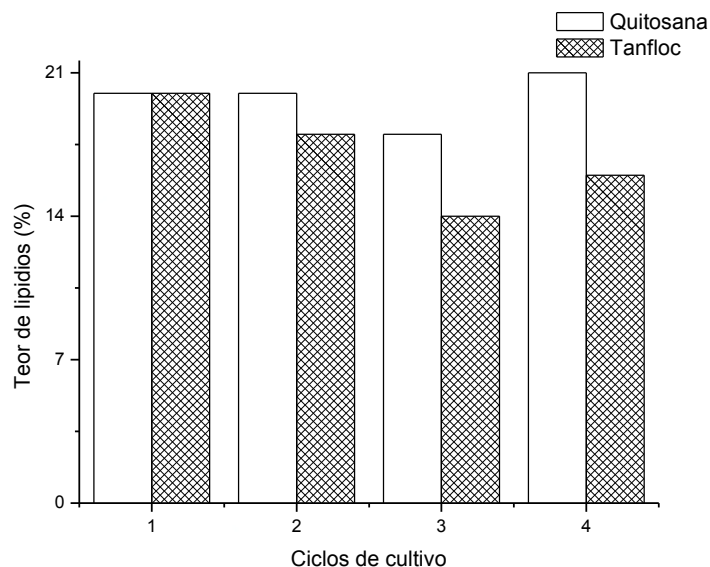
Observando a Figura 24 é possível notar um aumento significativo nas quantidades de carbono orgânico total nos experimentos provenientes da floculação com quitosana. Também se pode notar um aumento também significativo nas quantidades de nitrogênio total nos experimentos provenientes da floculação com tanfloc. É possível perceber uma tendência crescente nos valores de COT e NT ao longo dos reusos.

Sabe-se que, mesmo se fazendo a reutilização do clarificado, depois de muitos ciclos torna-se inviável prosseguir com o reuso, sendo necessário o descarte do clarificado já reutilizado em diversos cultivos. As quantidades excessivas de COT e NT podem comprometer a qualidade da água de lençóis subterrâneos e também de águas superficiais através da eutrofização, que é a proliferação excessiva de algas, causada pelo excesso de nutrientes, normalmente causado pela descarga de efluentes domésticos, agrícolas ou industriais em um corpo d'água. As algas podem causar gosto e odor na água, além de outros problemas sanitários. Elas ainda provocam o entupimento mais rápido dos filtros das estações de tratamento de água. A eutrofização também pode levar à proliferação de cianobactérias, que são microrganismos que podem liberar toxinas na água. (Pádua *et al.*, 2007) Por isso, as análises COT e NT são importantes quando são previstos descarte de efluentes, já que apesar do tratamento da água para garantir sua

potabilidade, através das estações de abastecimento público, esses compostos não são totalmente removidos, inviabilizando seu uso. (Couto, 2005)

A Figura 25 apresenta o teor de lipídios na biomassa seca para cada cultivo.

FIGURA 25 - TEOR DE LIPÍDIOS NA BIOMASSA SECA PARA CADA CULTIVO.



FONTE: Autora, 2015.

Curiosamente, é possível observar através da Figura 25, que o teor de lipídios de microalgas cultivadas no meio reciclado manteve-se durante as reutilizações consecutivas do meio reciclado. Embora o mecanismo exato não seja claramente compreendido, sugere-se que os produtos extracelulares que estão presentes no clarificado reciclado podem ter influenciado na produtividade de lipídios. Uma vez que, tais produtos extracelulares produzidos a partir de microalgas, que incluem uma ampla variedade de compostos (ácidos nucleicos, peptídeos, proteínas, e oligossacarídeos), podem ajudar na síntese de lipídios e o crescimento de células (Burkiewicz e Burkiewicz, 1996).

5.5. TESTES INICIAIS DE FLOCULAÇÃO USANDO AMIDOS CATIÔNICOS DE MANDIOCA

Os testes iniciais com soluções de amido diluídas em água (sem aquecimento) não foram capazes de flocular as suspensões de microalgas. Tal resultado pode ser explicado pelo fato que para o amido ser eficiente como auxiliar de floculação é necessário sua gelatinização, dada por processos de aumento de temperatura ou em soluções alcalinas (Fagundes, 2010). Portanto, posteriormente, trabalhou-se com soluções de 30 g/L em água aquecidas até atingir o ponto de gel, conforme encontrado na

literatura (Coelho *et al.*, 2010), porém a solução tornou-se muito viscosa e de difícil manuseio para os testes. Então, foi testada a concentração de 10 g/L em ponto de gel.

5.5.1. Floculação usando Superion 300 e DuoCat 355 na concentração 10 g/L

A concentração de amido testada foi de 10 g/L, a fim de reduzir a viscosidade do gel formado após o aquecimento da solução com a redução da concentração de amido visando facilitar o uso nos testes de floculação.

Os resultados obtidos estão apresentados nas Tabelas 11 e 12, para os amidos Superion 300 e DuoCat 355, respectivamente. A eficiência de floculação foi calculada utilizando a Equação 3, sendo que os valores de absorbância foram obtidos em 540 nm. O pH inicial da suspensão de microalgas estava em torno de 6.

TABELA 11 - EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO USANDO AMIDO SUPERION NA CONCENTRAÇÃO DE 10 G/L.

Superion 300 (mg/L)	Eficiência de floculação (%)
400	94,5 ± 0,2
500	81,9 ± 0,6
600	85,5 ± 0,3

FONTE: Autora, 2016.

TABELA 12 – EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO USANDO AMIDO DUOCAT NA CONCENTRAÇÃO DE 10 G/L.

DuoCat 355 (mg/L)	Eficiência de floculação (%)
400	89,0 ± 0,6
500	87,8 ± 0,3

FONTE: Autora, 2016.

Ainda que os amidos analisados se mostrem promissores em relação à floculação de microalgas, na concentração de 10 g/L, tiveram resultados quanto à eficiência de floculação abaixo dos demais orgânicos avaliados, tanfloc e quitosana. Além disso, mesmo com a redução da concentração para 10 g/L a solução ainda manteve-se muito viscosa para o bom andamento dos testes e obteve-se eficiências próximas a 90% em concentrações muito elevadas (> 400 mg/L), o que pode inviabilizar economicamente seu uso em escalas ampliadas. O ideal seria testar outras concentrações a fim de otimizar a eficiência de floculação dos amidos, o que pode ser realizado em estudos futuros.

5.6. FLOCULAÇÃO USANDO FLOCULANTES INORGÂNICOS E TANFLOC

Experimentos envolvendo a mistura de floculantes inorgânicos (Sulfato de Ferro III, Cloreto de Ferro III, Sulfato de Alumínio e Sulfato de Ferro II) foram realizados com tanfloc. Foram testadas várias concentrações de floculantes na suspensão de microalgas.

Os primeiros resultados obtidos estão apresentados na Tabela 13. A eficiência de floculação foi calculada utilizando a Equação 4, sendo que os valores de absorbância foram obtidos em 540 nm. O pH inicial da suspensão de microalgas estava em torno de 6.

TABELA 13 – EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO FAZENDO A MISTURA DE FLOCULANTES INORGÂNICOS COM TANFLOC.

Tanfloc (mg/L)	Sulfato de Ferro III (mg/L)	Eficiência de floculação (%)
10	10	68,1 ± 0,7
100	10	99,5 ± 0,1
10	50	79,7 ± 0,2
100	50	99,0 ± 0,2
Tanfloc (mg/L)	Cloreto de Ferro III (mg/L)	Eficiência de floculação (%)
10	10	75,6 ± 0,2
100	10	99,5 ± 0,1
10	50	88,4 ± 0,1
100	50	99,3 ± 0,1
Tanfloc (mg/L)	Sulfato de Alumínio (mg/L)	Eficiência de floculação (%)
10	10	75,7 ± 0,9
100	10	99,4 ± 0,1
10	50	82,0 ± 0,4
100	50	98,9 ± 0,1
Tanfloc (mg/L)	Sulfato de Ferro II (mg/L)	Eficiência de floculação (%)
10	10	78,1 ± 0,3
100	10	98,8 ± 0,1
10	50	75,3 ± 0,4
100	50	99,3 ± 0,1

FONTE: Autora, 2016.

Observando a Tabela 13 é possível notar que independente do floculante inorgânico utilizado, no geral, as floculações foram lideradas pela quantidade de tanfloc adicionado. Ao aumentar a quantidade de floculante inorgânico também foi possível observar um aumento significativo na eficiência de floculação. Porém, buscava-se reduzir consideravelmente a quantidade de ambos, tanfloc e floculante inorgânico, a fim de que combinados resultassem em altas eficiências de floculação, e isto apenas pode ser notado nos experimentos com alta concentração de tanfloc.

Mesmo com estes resultados, tentou-se prosseguir com os testes fixando a concentração de floculante inorgânico em 10 mg/L e variando a concentração de tanfloc de 30 a 70 mg/L, em busca de melhorar os resultados apresentados. A Tabela 14 apresenta os resultados, então, obtidos nos últimos testes feitos com a mistura de floculantes.

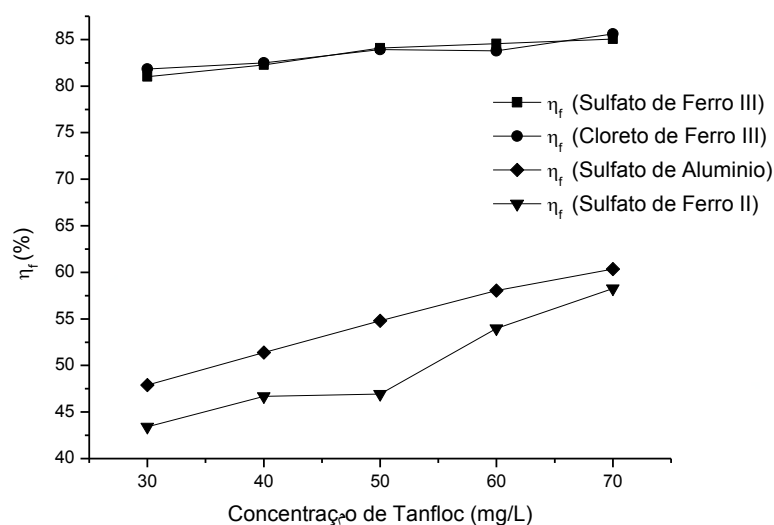
TABELA 14 - EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO FAZENDO A MISTURA DE FLOCULANTES INORGÂNICOS COM TANFLOC.

Tanfloc (mg/L)	Sulfato de Ferro III (mg/L)	Eficiência de floculação (%)
70	10	85,0 ± 0,1
60	10	84,6 ± 0,2
50	10	84,1 ± 0,2
40	10	82,3 ± 0,1
30	10	81,0 ± 0,1
Tanfloc (mg/L)	Cloreto de Ferro III (mg/L)	Eficiência de floculação (%)
70	10	85,6 ± 0,3
60	10	83,8 ± 0,1
50	10	83,9 ± 0,2
40	10	82,5 ± 0,2
30	10	81,8 ± 0,1
Tanfloc (mg/L)	Sulfato de Alumínio (mg/L)	Eficiência de floculação (%)
70	10	60,4 ± 0,2
60	10	58,0 ± 0,3
50	10	54,8 ± 0,1
40	10	51,4 ± 0,2
30	10	47,9 ± 0,1
Tanfloc (mg/L)	Sulfato de Ferro II (mg/L)	Eficiência de floculação (%)
70	10	58,3 ± 0,2
60	10	54,0 ± 0,4
50	10	46,9 ± 0,3
40	10	46,7 ± 0,3
30	10	43,4 ± 0,5

FONTE: Autora, 2016.

Ao analisar a Tabela 14, pode-se notar a tendência de redução nas eficiências de floculação de acordo com a redução da quantidade de tanfloc no meio. Tal tendência pode ser claramente observada na Figura 26.

FIGURA 26 – EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO AO COMBINAR-SE FLOCULANTES INORGÂNICOS E TANFLOC.



FONTE: Autora, 2016.

Assim, através dos resultados obtidos, descartaram-se as hipóteses que as misturas de floculantes (tanfloc + inorgânicos) pudessem apresentar altas eficiências de floculação (> 95%) fazendo uso de quantidades reduzidas dos produtos.

5.7. ANÁLISE DE CUSTOS DA OBTENÇÃO DE BIOMASSA USANDO TANFLOC E QUITOSANA

A Tabela 15 apresenta os dados coletados para realização da análise de custos simplificada para o uso do tanfloc e quitosana. O pH inicial da suspensão de microalgas estava em torno de 6.

TABELA 15 – DADOS COLETADOS PARA REALIZAÇÃO DA ANÁLISE DE CUSTOS SIMPLIFICADA.

Floculantes	Tanfloc	Quitosana
Concentração (mg/L)	210	10
Volume floculado (L)	3000	2000
Preço floculante (R\$/kg)	10	80
Preço ácido acético (R\$/L)	25,50	
Volume ácido acético P.A. (L)	-	0,2
Volume de lodo aproximado (L)	300	30
Tempo de centrifuga (min)	148	14,8
Potência centrifuga (HP)	3	
Energia gasta (kWh)	5,52	0,552
Preço da energia (R\$/kWh)	0,78	

FONTE: Autora, 2016.

Para que fosse possível a comparação dos custos dos floclulantes analisados os cálculos tiveram como base um volume floclulado de 1000 litros. Na Tabela 16 estão dispostos os resultados obtidos com relação aos custos envolvidos na floclulação de 1000 litros de microalgas usando tanfloc e quitosana.

TABELA 16 - CUSTOS ENVOLVIDOS NA FLOCLULAÇÃO DE 1000 LITROS DE MICROALGAS USANDO TANFLOC E QUITOSANA.

Floclulantes	Tanfloc	Quitosana
Custo floclulante (R\$)	2,1	0,8
Custo ácido acético (R\$)	-	2,55
Custo centrifugação (R\$)	1,44	0,22
Custo total (R\$)	3,54	3,57

FONTE: Autora, 2016.

Analisando a Tabela 16 o custo total obtido para o processamento da biomassa usando tanfloc e quitosana é praticamente o mesmo, entretanto, soma-se ao custo total o CO₂ utilizado para baixar o pH do meio na floclulação com tanfloc, pois cultivos bem controlados, com alto crescimento de células e biomassa, no geral, apresentam pH em torno de 10.

Dessa maneira, com o pH inicial igual a 10, o custo total para floclulação com quitosana será mais viável economicamente. Além disso, não haverá a etapa de reduzir o pH, o que reduz o tempo de processamento total da biomassa. Ainda assim, procurou-se mostrar através dos resultados obtidos a importância dos experimentos para se obter o custo total do processamento, até mesmo porque diante dos resultados o tanfloc mostrou-se um produto capaz de competir com a quitosana em relação à floclulação de microalgas, uma vez que apresentou eficiências de floclulação elevadas como a quitosana e, pela análise simplificada realizada, apresentou custos bem próximos aos da quitosana.

6. CONCLUSÕES

A finalidade principal desse estudo estava relacionada à floculação da microalga *Scenedesmus* sp. através do uso de flocculantes naturais. Portanto, os resultados experimentais apresentados e discutidos nesse trabalho levaram às seguintes conclusões:

- O tanfloc tem um grande potencial para a recuperação da biomassa do cultivo de microalgas e apresentou eficiências de floculação próximas da quitosana. No entanto, a eficiência do tanfloc é altamente dependente do pH do meio, sendo necessária a redução do pH antes da floculação. Isto porque o tanfloc é diluído apenas em água e a quitosana é diluída em solução de ácido acético 1%, que por sua vez auxilia na redução do pH, sem a necessidade de fazer isso antes da floculação.

- O tanfloc e a quitosana não inibiram o crescimento do cultivo fazendo reuso do clarificado, o que é de extrema importância para prosseguimento dos estudos para aplicação em escala industrial.

- O crescimento dos cultivos foi mantido aproximadamente igual (concentração de biomassa maior que 400 mg/L) em cada reutilização, bem como o teor de lipídios totais (aproximadamente 15-20%), mostrando que é possível fazer a reutilização do clarificado sem afetar o crescimento e a qualidade da biomassa.

- No experimento fazendo reuso do clarificado, na última floculação com quitosana não foi possível obter taxas de recuperação de biomassa elevadas, o que deve ser melhor analisado em estudos futuros fazendo reuso do clarificado com mais ciclos de floculação e cultivos sucessivos.

- Os amidos catiônicos de mandioca se mostraram bastante promissores quanto à floculação de microalga, porém eficiências de floculação próximas a 90% só foram obtidas com o uso de concentrações iguais ou superiores a 400 mg/L. Por isso, é preciso analisar sua viabilidade econômica para que possam concorrer com flocculantes naturais, como o tanfloc e a quitosana, já que concentrações muito elevadas podem acarretar custos de floculação muito altos.

- Os testes utilizando a mistura de flocculantes inorgânicos com tanfloc apresentaram resultados bastante negativos (altas eficiências de floculação apenas em

altas concentrações de floculantes), fazendo com que tais estudos fossem interrompidos, já que se buscava usar a mistura a fim de reduzir a quantidade necessária de floculante.

- Através da análise econômica simplificada realizada para o tanfloc e a quitosana, o primeiro também se mostrou promissor economicamente, fazendo com que sejam necessários mais estudos para comprovação de seu uso em escala industrial.

7. TRABALHOS FUTUROS

- Realizar aprofundamento da análise de custos envolvendo floculação utilizando tanfloc e quitosana;
- Iniciar estudos relacionados à floculação de microalgas de forma contínua;
- Analisar melhor o comportamento da quitosana em cultivos sucessivos de microalga fazendo reuso do clarificado, uma vez que a microalga começou a “perder” sua capacidade de flocular no final do experimento (terceira e quarta floculação);
- Realizar estudos mais aprofundados utilizando amidos catiônicos como floculantes de microalgas.
- Produzir biodiesel a partir da biomassa recuperada para avaliar a qualidade do produto e comprovar a possibilidade da produção de biodiesel através de microalgas.

8. REFERÊNCIAS

- ‘t LAM, G. P.; VERMUË, M. H.; OLIVIERI, G.; VAN DEN BROEK, L. A. M.; BARBOSA, M. J.; EPPINK, M. H. M.; WIJFFELS, R. H.; KLEINEGRIS D. M. M. **Cationic polymers for successful flocculation of marine microalgae**. Bioresource Technology. 2014. 804-807.
- AGUILAR, M. I. **Coagulación-Floculación**. Universidad de Castilla-La Mancha. 2002. Disponível em: <http://www3.uclm.es/profesorado/giq/contenido/dis_procesos/tema5.pdf>. Acesso em: 24/04/2015.
- AHMAD, A. L.; MAT YASIN, N. H.; DEREK, C. J. C.; LIM, J. K. **Optimization of microalgae coagulation process using chitosan**. Chemical Engineering Journal. 2011. 879-882.
- ANDERSEN, R. A. **The Microalgal Cell**. Handbook of Microalgal Culture: John Wiley & Sons. 2013. 1-20.
- BECKER, E. W. **Microalgae: Biotechnology and Microbiology**. Cambridge University Press, 1994.
- BRENNAN, L.; OWENDE, P. **Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products**. Renewable & Sustainable Energy Reviews. 2010. 557-577.
- BURKIEWICZ, K.; BURKIEWICZ, R. **Biological activity of the media after algal cultures can result from extracellular carbohydrates**. J. Plant Physiol. 1996. 662–666.
- CASTRILLO, M.; LUCAS-SALAS, L.M.; RODRÍGUEZ-GIL, C.; MARTÍNEZ, D. **High pH-induced flocculation-sedimentation and effect of sobrenatant reuse on growth rate and lipid productivity of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella vulgaris***. Bioresource Technology. 2013. 324-329.
- CASTRO, F. C. **Ambiente: Polímero orgânico natural trata água e efluentes**. Disponível em: <<http://www.quimica.com.br/pquimica/25003/ambiente-polimetro-organico-natural-trata-agua-e-efluentes/>>. Acesso em: 10/11/2015.
- CEFET-RJ. **Análise experimental. Espectrofotometria**. 2016. Disponível em:<http://www.ifrj.edu.br/webfm_send/547>. Acesso em: 29/01/2016.

CEREDA, M. P. **Agricultura: tuberosas amiláceas Latino Americanas**. Série Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas. São Paulo: Fundação Cargill, 2002.

CHEN, C.Y.; YEH, K. L.; AISYAH, R.; LEE, D. J.; CHANG, J. S. **Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review**. Bioresource Technology. 2011. 71-81.

CHEN, L.; WANG, C.; W.; WANG, W.; WEI, J. **Optimal conditions of different flocculation methods for harvesting *Scenedesmus* sp. cultivated in an open-pond system**. 2013. 9–15.

COELHO, T.M. PARAGUAIO, T. SANTOS NETO, J. B. S. ASSAD FILHO, N. LUDEWIG, D. R. **Estudo comparativo da floculação entre amido catiônico e amido interligado catiônico**. Fecilcam. São Carlos, SP. 2010.

CORRÊA, D. O. **Desenvolvimento e caracterização do cultivo de microalgas em fotobiorreator alimentado por emissões gasosas de motores**. Dissertação de Mestrado, UFPR. Curitiba, PR. 2015.

COUTO, R. M. **A análise de TOC na Indústria Farmacêutica**. 2005. Disponível em: <<http://www.meiofiltrante.com.br/edicoes.asp?id=185&link=ultima&fase=C>>. Acesso em: 13/11/2015.

DAVIS, R.; ADEN, A.; PIENKOS, P.T. **Techno-economic analysis of autotrophic microalgae for fuel production**. Appl. Energy. 2011. 3524–3531.

DEL CINCA. **Coagulantes Del Cinca**. 2016. Disponível em: <<http://www.coagulantesdelcinca.com/productos.php?cvid=3>>. Acesso em: 02/02/2016.

DELRUE, F.; IMBERT, Y.; FLEURY, G.; PELTIER, G.; SASSI, J. **Using coagulation-flocculation to harvest *Chlamydomonas reinhardtii*: Coagulant and flocculant efficiencies, and reuse of the liquid phase as growth medium**. Algal Research. 2015. 283-290.

DEMIRBAS, A. **Biodiesel from oilgae, biofixation of carbon dioxide by microalgae: A solution to pollution problems**. Applied Energy. 2011. 3541-3547.

FAGUNDES, T. S. **Uso de polímero natural a base de amido como auxiliar de floculação no pós-tratamento de efluentes UASB com flotação por ar dissolvido.** Universidade de São Paulo. Escola de Engenharia de São Carlos. Engenharia Ambiental. 2010.

FAROOQ, W.; MOON, M.; RYU, B.; SUH, W. I.; SHRIVASTAV, A.; PARK, M. S.; MISHRA, S. K.; YANG, J. **Effect of harvesting methods on the reusability of water for cultivation of *Chlorella vulgaris*, its lipid productivity and biodiesel quality.** Algal Research. 2015. 1-7.

GONG, Y.; JIANG, M. **Biodiesel production with microalgae as feedstock: from strains to biodiesel.** Biotechnology Letters. 2011. 1269-1284.

GRIMA, E.M.; BELARBI, E.H.; FERNANDEZ, F.G. A.; MEDIAN, A. R.; CHISTI, Y. **Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics.** Biotechnol. Adv. 2002. 491–515.

GUTIÉRREZ, R.; PASSOS, F.; FERRER, I.; UGGETTI, E.; GARCÍA, J. **Harvesting microalgae from wastewater treatment systems with natural flocculants: Effect on biomass settling and biogas production.** Algal Research. 2015. 204-211.

HANSEL, P. A.; RIEFLER, R. G.; STUART, B. J. **Efficient flocculation of microalgae for biomass production using cationic starch.** Algal Research. 2014 133-139.

HEREDIA, J. B.; MARTIN, J. S. **Removing heavy metals from polluted surface water with a tannin-based flocculant agent.** J. Haz. Mat. 2009. 1215-1218.

HEREDIA, J. B.; MARTIN, J. S.; DAVILA-ACEDO, M. A. **Optimization of the synthesis of a new coagulant from a tannin extract.** J. Haz. Mat. 2011. 1704-1712.

HU, Q. **Environmental Effects on Cell Composition.** Handbook of Microalgal Culture: John Wiley & Sons. 2013. 114-122.

JIANG, X. Y.; SOMMER, S. G.; CHRISTENSEN, K. V. **A review of the biogas industry in China.** Energy Policy. 2011. 6073-6081.

KUMAR, K.; DASGUPTA, C. N.; NAYAK, B.; LINDBLAD P.; DAS, D. **Development of suitable photobioreactors for CO₂ sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria.** Bioresource Technology. 2011. 4945–4953.

LEE, A.K.; LEWIS, D.M.; ASHMAN, P.J. **Microbial flocculation, a potentially low cost harvesting technique for marine microalgae for the production of biodiesel.** J. Appl. Phycol. 2008. 559–567.

LEE, R. E. **Phycology.** Cambridge University Press. 2008.

LOURENÇO, S.O. **Cultivo de microalgas marinhas - princípios e aplicações.** Rima Editora, São Carlos. 2006.

LUCAS-SALAS, L.M.; CASTRILLO, M.; MARTÍNEZ, D. **Effects of dilution rate and water reuse on biomass and lipid production of *Scenedesmus obliquus* in a two stage novel photobioreactor.** Bioresource Technology. 2013. 344-352.

MATA, T.M.; MARTINS, A.A.; CAETANO, N.S. **Microalgae for biodiesel production and other applications: a review.** Renew. Sustain. Energy Rev. 2009. 217–232.

PÁDUA, V. L.; PRINCE, A. A.; CARDOSO, L. C.; FREITAS, I. C. **Qualidade da água e padrões de potabilidade : abastecimento de água : guia do profissional em treinamento: nível 2 / Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental (org.).** Belo Horizonte: ReCESA. 2007.

RAWAT, I.; RANJITH, R. K.; MUTANDA, T.; BUX, F. **Biodiesel from microalgae: a critical evaluation from laboratory to large scale production.** Appl. Energy. 2013. 444-467.

RIBEIRO, M. M.; BORGES, L. F.; LUPIANHES, B.H. **Obtenção, purificação, e caracterização do sulfato ferroso.** Universidade Federal de Alfenas. 2010. Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAABcHQAk/obtencao-purificacao-caracterizacao-sulfato-ferroso>>. Acesso em: 07/08/2015.

SALIM, S.; BOSMA, R.; VERMUE, M.H.; WIJFFELS, R.H. **Harvesting of microalgae by bio-flocculation.** J. Appl. Phycol. 2011. 849–855.

SALIM, S.; VERMUE, M.H.; WIJFFELS, R.H. **Ratio between autoflocculating and target microalgae affects the energy-efficient harvesting by bio-flocculation.** Bioresource Technology. 2012. 49–55.

SANDER, K.; MURTHY, G.S. **Life cycle analysis of algae biodiesel.** Int. J. Life Cycle Assess. 2010. 704–714.

SELESU, N. F. H. **Desenvolvimento do processo de produção de microalgas em fotobiorreator industrial usando efluente suíno biodigerido.** Dissertação de Mestrado. UFPR. Curitiba, PR. 2015.

SHARMA, B.R.; DHULDHOYA, N.C.; MERCHANT, U.C. **Flocculants - an ecofriendly approach.** J. Polym. Environ. 2006. 195–202.

SHARMA, K. K.; SCHUHMANN, H.; SCHENK, P. M. **High Lipid Induction in Microalgae for Biodiesel Production.** Energies. 2012. 1532-1553.

SIMEPAR, 2014. Disponível em: <<http://www.simepar.br>>. Acesso em: 10/12/2014.

SINGH, J.; GU, S. **Commercialization potential of microalgae for biofuels production.** Renew. Sustain. Energy Rev. 2010. 2596–2610.

SMITH, V. H.; CREWS, T. **Applying ecological principles of crop cultivation in large-scale algal biomass production.** Algal Research. 2014. 23-24.

SPINELLI, V. A. **Quitosana, polieletrólito natural para o tratamento de água potável.** Universidade Federal de Santa Catarina. Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. 2001.

TANAC. 2014. **Tanfloc Safety data.** Disponível em: <<http://www.tanac.com.br/>>. Acesso em: 21/01/2015.

TRAMONTINI, M.; ANGIOLINI, L. **Mannich Bases.** Chemistry and Uses. CRC Press: Boca Raton. 1994.

TRINDADE FILHO, J. C. **Produção de amostras de amido catiônico e realização de testes de floculação.** Engenharia de Produção Agroindustrial. Fecilcam. 2009.

UDUMAN, N.; QI, Y.; DANQUAH, M. K. **Marine microalgae flocculation and focused beam reflectance measurement.** 2010. 935–940.

VANDAMME, D.; FOUBERT, I.; MUYLEAERT, K. **Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production.** Trends in Biotechnology. 2013.

WILLIAMS, PJIB; LAURENS, L.M.L. **Microalgae as biodiesel & biomass feedstocks: review & analysis of the biochemistry, energetic & economics.** Energy Environ. Sci. 2010. 554–590.

XU, L.; BRILMAN, D.W.F.; WITHAG, J.A.M.; BREM, G.; KERSTEN, S. **Assessment of a dry and a wet route for the production of biofuels from microalgae: energy balance analysis.** Bioresource Technology. 2011. 5113–5122.

YANG J.; XU, M.; ZHANG, X.; HU, Q.; SOMMERFELD, M.; CHEN, Y. **Life-cycle analysis on biodiesel production from microalgae: water footprint and nutrients balance.** Bioresource Technology. 2011. 159–165.

YUPING, W.; CHENG, F.; ZHENG, H. **Synthesis and flocculating properties of cationic starch derivatives.** Carbohydr. Polym. 2008. 673–679.